

ACNE TREATING-WOUND HEALING COMPOSITIONS CONTAINING A PYRUVATE, AN ANTIOXIDANT AND A MIXTURE OF FATTY ACIDS

Publication number: JP10509451 (T)

Publication date: 1998-09-14

Inventor(s):

Applicant(s):

Classification:

- international: A61K8/30; A61K8/00; A61K8/04; A61K8/36; A61K8/365; A61K8/67; A61K8/98; A61K31/015; A61K31/07; A61K31/19; A61K31/20; A61K31/201; A61K31/355; A61K45/00; A61K45/06; A61P17/00; A61P43/00; A61Q11/00; A61Q19/00; A61Q19/08; A61K8/30; A61K8/00; A61K8/04; A61K8/96; A61K31/01; A61K31/045; A61K31/185; A61K31/352; A61K45/00; A61P17/00; A61P43/00; A61Q11/00; A61Q19/00; A61Q19/08; (IPC1-7): A61K31/07; A61K7/00; A61K7/48; A61K31/015; A61K31/19; A61K31/20; A61K45/00

- European: A61Q19/00; A61K8/365; A61K8/67C; A61K31/355; A61K45/06; A61Q19/08

Application number: JP19950516043T 19951005

Priority number(s): WO1995US12853 19951005; US19940340579 19941116; US19950446988 19950522

Also published as:

WO9614868 (A1)
NZ295852 (A)
MX9703354 (A)
ES2176343 (T3)
EP0792163 (A1)

more >>

Abstract not available for JP 10509451 (T)

Abstract of corresponding document: **WO 9614868 (A1)**

This invention pertains to therapeutic acne treating-wound healing compositions useful for the topical treatment of acne vulgaris. The compositions comprise a therapeutically effective amount of tretinoin and a wound healing composition. In one embodiment the wound healing composition comprises (a) pyruvate; (b) an antioxidant; and (c) a mixture of saturated and unsaturated fatty acids. The therapeutic acne treating-wound healing compositions may be utilized in a wide variety of pharmaceutical products. This invention also relates to methods for preparing and using the therapeutic acne treating-wound healing compositions and the pharmaceutical products in which the therapeutic compositions may be used. This invention also relates to methods for employing the therapeutic acne treating-wound healing compositions to treat wrinkles.

Data supplied from the esp@cenet database — Worldwide

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表平10-509451

(43) 公表日 平成10年(1998) 9月14日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	F I		
A 6 1 K 31/07	ADA	A 6 1 K 31/07	ADA	
7/00		7/00	Y	
			C	
			H	
7/48		7/48		
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 102 頁) 最終頁に続く				

(21) 出願番号	特願平8-516043	(71) 出願人	ワーナー・ランパート・カンパニー アメリカ合衆国ニュージャージー州07950, モーリス・ブレインズ, デーバー・ロード 201
(86) (22) 出願日	平成7年(1995)10月5日	(72) 発明者	マーティン, アレン アメリカ合衆国ニュージャージー州08551, リングーズ, カントリー・クラブ・ドライ ブ 31
(85) 翻訳文提出日	平成9年(1997)5月16日	(74) 代理人	弁理士 社本 一夫 (外5名)
(86) 国際出願番号	P C T / U S 9 5 / 1 2 8 5 3		
(87) 国際公開番号	W O 9 6 / 1 4 8 6 8		
(87) 国際公開日	平成8年(1996)5月23日		
(31) 優先権主張番号	0 8 / 3 4 0 , 5 7 9		
(32) 優先日	1994年11月16日		
(33) 優先権主張国	米国 (U S)		
(31) 優先権主張番号	0 8 / 4 4 6 , 9 8 8		
(32) 優先日	1995年5月22日		
(33) 優先権主張国	米国 (U S)		
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 ビルベート、酸化防止剤及び脂肪酸の混合物を含有するアクネ処置用創傷治癒組成物

(57) 【要約】

この発明は、尋常性アクネの局所処置に有用な治療用アクネ処置用創傷治癒組成物を提供する。この組成物は、治療的有効量のトレチノイン及び創傷治癒組成物を含む。一態様において、この創傷治癒組成物は、(a) ビルビン酸、薬学的に許容できるビルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるビルベート；(b) 酸化防止剤；及び(c) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物を含む。この治療用アクネ処置用創傷治癒組成物は、多種多様な医薬製品に用いることができる。この発明は、そのアクネ処置用創傷治癒組成物を製造及び使用する方法及びその治療用組成物が用いられ得る医薬製品にも関する。この発明は、その治療用アクネ処置用創傷治癒組成物をシワを処置するために用いる方法にも関する。

【特許請求の範囲】

1. 治療的有効量のトレチノインと創傷治癒組成物とを含む尋常性アクネの局所処置のための治療用抗アクネ創傷治癒組成物であって、該創傷治癒組成物が

;

(a) ビルビン酸、薬学的に許容できるビルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるビルベート;

(b) 酸化防止剤; 及び

(c) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物;

を含む組成物。

2. ビルベートが、ビルビン酸、ビルビン酸リチウム、ビルビン酸ナトリウム、ビルビン酸カリウム、ビルビン酸マグネシウム、ビルビン酸カルシウム、ビルビン酸亜鉛、ビルビン酸マンガン、ビルビン酸メチル、 α -ケトグルタル酸、薬学的に許容できるビルビン酸の塩、ビルビン酸のプロドラッグ、及びそれらの混合物からなる群から選択される、請求項1記載の組成物。

3. ビルベートがビルビン酸ナトリウムである、請求項2記載の組成物。

4. 酸化防止剤が、レチノール及び3,4-ジデヒドロレチノールを含むビタミンAの全ての形; α -カロチン、 β -カロチン、 γ -カロチン、及び δ -カロチンを含むカロチンの全ての形;D-アスコルビン酸及びL-アスコルビン酸を含むビタミンCの全ての形; α -トコフェロール、 β -トコフェロール、 γ -トコフェロール、 δ -トコフェロール、トコキノン、トコトリエノール、酢酸ビタミンE及びコハク酸ビタミンEを含む容易に加水分解されてビタミンEになるビタミンEエステル、及びリン酸ビタミンEなどの薬学的に許容できるビタミンE塩を含むビタミンEの全ての形;ビタミンA、カロチン、ビタミンC、及びビタミンEのプロドラッグ;ビタミンA、カロチン、ビタミンC、及びビタミンEの薬学的に許容できる塩;並びにそれらの混合物からなる群から選択される、請求項1記載の組成物。

5. 酸化防止剤が酢酸ビタミンEである、請求項4記載の組成物。

6. 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物が、動物性及び植物性脂肪及びワックスからなる群から選択される、請求項1記載の組成物。

7. 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物が、人脂、鶏脂、牛脂、羊脂、馬脂、豚脂、及び鯨脂からなる群から選択される、請求項6記載の組成物。

8. 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物が、ラウリン酸、ミリスチン酸、ミリストレイン酸、ペンタデカン酸、パルミチン酸、パルミトレイン酸、マルガリン酸、マルガロレイン酸、ステアリン酸、オレイン酸、リノール酸、リノレン酸、アラキジン酸、及びガドレイン酸からなる群から選択される、請求項7記載の組成物。

9. トレチノインが、治療用創傷治癒組成物中に治療用創傷治癒組成物の約0.01～約0.1重量%の量で存在する、請求項1記載の組成物。

10. ビルベートが、治療用創傷治癒組成物中に治療用創傷治癒組成物の約10～約50重量%の量で存在する、請求項1記載の組成物。

11. 酸化防止剤が、治療用創傷治癒組成物中に治療用創傷治癒組成物の約0.1～約40重量%の量で存在する、請求項1記載の組成物。

12. 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物が、治療用創傷治癒組成物中に治療用創傷治癒組成物の約10～約50重量%の量で存在する、請求項1記載の組成物。

13. ヒトにおける尋常性アクネをアクネ処置用創傷治癒組成物で処置する方法であって：

(A) 治療用アクネ処置用創傷治癒組成物であって：

(1) 治療的有效量のトレチノイン；及び

(2) 創傷治癒組成物であって：

(a) ビルビン酸、薬学的に許容できるビルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるビルベート；

(b) 酸化防止剤；及び

(c) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物を含む創傷治癒組成物を含む、治療用アクネ処置用創傷治癒組成物を提供し；そして

(B) 該アクネ処置用創傷治癒組成物を尋常性アクネに接触させる

工程を含む方法。

14. ヒトにおけるシワをアクネ処置用創傷治癒組成物で処置する方法であって：

(A) 治療用アクネ処置用創傷治癒組成物であって：

(1) 治療的有效量のトレチノイン；及び

(2) 創傷治癒組成物であって：

(a) ビルビン酸、薬学的に許容できるビルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるビルベート；

(b) 酸化防止剤；及び

(c) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物を含む創傷治癒組成物を含む、治療用アクネ処置用創傷治癒組成物を提供し；そして

(B) 該アクネ処置用創傷治癒組成物をシワに接触させる

工程を含む方法。

15. 尋常性アクネの局所処置のための治療用アクネ処置用創傷治癒組成物を製造する方法であって、下記成分：

(1) 治療的有效量のトレチノイン；及び

(2) 創傷治癒組成物であって：

(a) ビルビン酸、薬学的に許容できるビルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるビルベート；

(b) 酸化防止剤；及び

(c) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物を含む創傷治癒組成物；を混和する工程を含む方法。

16. 増補アクネ処置用創傷治癒組成物であって：

(A) 治療用アクネ処置用創傷治癒組成物であって：

(1) 治療的有效量のトレチノイン；及び

(2) 創傷治癒組成物；

を含み、該創傷治癒組成物が：

(a) ビルビン酸、薬学的に許容できるビルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるビルベート；

(b) 酸化防止剤；及び

(c) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物；
を含む、治療用アクネ処置用創傷治癒組成物；及び

(B) 創傷を処置するのに有用な医薬品；
を含む、増補アクネ処置用創傷治癒組成物。

17. 創傷を処置するのに有用な医薬品が、免疫刺激剤、抗ウイルス剤、抗表皮剥離剤、抗炎症剤、抗真菌剤、他のアクネ治療剤、日焼け止め、皮膚科剤、抗ヒスタミン剤、抗細菌剤、生体接着剤、レスピラトリバースト阻害剤、プロスタグランジン合成の阻害剤、抗微生物剤、防腐剤、麻酔剤、細胞栄養培地、火傷軽減医薬品、日焼け用医薬品、虫咬傷及び虫刺され用医薬品、創傷清浄剤、創傷用包帯、瘢痕軽減剤、及びそれらの混合物からなる群から選択される、請求項16記載の増補アクネ処置用創傷治癒組成物。

18. ヒトにおける尋常性アクネを増補抗アクネ創傷治癒組成物で処置する方法であって：

(A) 治療用増補抗アクネ創傷治癒組成物であって：

(1) 治療的有效量のトレチノイン；及び

(2) 創傷治癒組成物であって：

(a) ビルビン酸、薬学的に許容できるビルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるビルベート；

(b) 酸化防止剤；及び

(c) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物を含む創傷治癒組成物；
及び

(3) 創傷を処置するのに有用な医薬品；
を含む治療用増補抗アクネ創傷治癒組成物を提供し；そして

(B) 該増補抗アクネ創傷治癒組成物を尋常性アクネに接触させる；

工程を含む方法。

19. ヒトにおけるシワを増補抗アクネ創傷治癒組成物で処置する方法であって：

(A) 治療用増補抗アクネ創傷治癒組成物であって：

(1) 治療的有効量のトレチノイン；及び

(2) 創傷治癒組成物であって：

(a) ビルビン酸、薬学的に許容できるビルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるビルベート；

(b) 酸化防止剤；及び

(c) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物を含む創傷治癒組成物；
及び

(3) 創傷を処置するのに有用な医薬品；

を含む治療用増補抗アクネ創傷治癒組成物を提供し；そして

(B) 該増補抗アクネ創傷治癒組成物をシワに接触させる；

工程を含む方法。

20. 抗アクネ創傷治癒医薬組成物であって：

(A) 治療用抗アクネ創傷治癒組成物であって：

(1) 治療的有効量のトレチノイン；及び

(2) 創傷治癒組成物であって：

(a) ビルビン酸、薬学的に許容できるビルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるビルベート；

(b) 酸化防止剤；及び

(c) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物；

を含む創傷治癒組成物を含む、治療用抗アクネ創傷治癒組成物；及び

(B) 薬学的装具、生体接着剤、及び閉塞性ビヒクルからなる群から選択される薬学的に許容できるキャリア；

を含む医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

ピルベート、酸化防止剤及び脂肪酸の混合物を含有する

アクネ処置用創傷治癒組成物

発明の背景

1. 発明の分野

この発明は、尋常性アクネの局所処置に有用な治療用アクネ処置用創傷治癒組成物に関する。より特定的には、そのアクネ処置用創傷治癒組成物は、トレチノイン及び創傷治癒組成物及び／又はその代謝産物を含む。この発明は、そのアクネ処置用創傷治癒組成物を製造及び使用する方法及びその治療用組成物が用いられ得る医薬製品にも関する。この発明は、この治療用アクネ処置用創傷治癒組成物をシワを処置するために用いる方法にも関する。

この発明の治療用創傷治癒組成物の好ましい態様は、(a)ピルビン酸、薬学的に許容できるピルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるピルベート、(b)酸化防止剤、及び(c)飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物を含む。

2. 背景の説明

創傷治癒

創傷は、構造の正常な連続性を途絶させる、機械的手段の如き物理的手段、化学的、ウイルス的、細菌的、又は熱的手段によって起こる体内又は体外の負傷又は外傷である。かかる身体的負傷には、打撲傷、つまり皮膚が破られない創傷、切り傷、つまり切断用具によって皮膚が破られる創傷、及び裂傷、つまり鋭利ではないか又は鈍い用具によって皮膚が破られる創傷が含まれる。創傷は、事故又は外科手術によって起こり得る。大きな創傷を受けている患者は、創傷治癒過程の促進から利益を得ることができよう。

創傷治癒は、負傷した組織が修復され、特定の組織が再生され、そして新たな組織が再編成されることによる、一連の過程からなる。創傷治癒は3つの主要期、即ち、a)炎症期(0～3日)、b)細胞増殖期(3～12日)、及びc)再

成形期（3日～6か月）からなる。

炎症期の間に、血小板凝集及び凝固が、血漿タンパク質及び血球を補足するマトリックスを形成して、種々の型の細胞の流入を誘発する。細胞増殖期の間に、新たな結合組織又は肉芽組織及び血管が形成される。再成形期の間に、肉芽組織がコラーゲン及びエラスチン線維の網状構造によって置き換えられ、瘢痕組織の形成が導かれる。

創傷の結果として細胞が負傷するか又は死んだ場合、創傷治癒段階は、負傷した細胞を蘇生させそして死んだ細胞と置き換わるための新たな細胞をもたらすのには望ましい。この治癒過程は、細胞毒性の反転、炎症の抑制、及び細胞活力と増殖の刺激を必要とする。創傷は、酸化的損傷を抑制するために治癒の初期段階において低レベルの酸素を必要とし、そして線維芽細胞によるコラーゲン形成を促進するために治癒の後期段階において高レベルの酸素を必要とする。

哺乳動物細胞は、スーパーオキシド (O_2^-)、過酸化水素 (H_2O_2)、ヒドロキシラジカル ($OH\cdot$)、及び一重項酸素 (1O_2) のような活性酸素種に継続的に曝されている。in vivo では、これら反応性酸素の中間物は、創傷を通して入ってきたような侵入細菌を殺すために、好気性の新陳代謝、薬品及び他の生体異物の異化作用、紫外線及びX線照射、及び（白血球のような）食細胞のレスピラトリバーストに応答して、細胞によって発せられる。例えば、過酸化水素は、特に圧迫されて負傷した細胞によって大部分の生きている生物の呼吸の間に生成される。

これら活性酸素種は細胞を負傷させ得る。このような損傷の重要な例は、不飽和脂質の酸化的劣化に関連する脂質過酸化である。脂質過酸化は、膜構造及び膜機能に非常に有害であり、数多くの細胞病理学的な作用を生じ得る。細胞は、スーパーオキシドジスムターゼ、カタラーゼ、及びペルオキシターゼのようなラジカルスカベンジャーをつくることによって脂質過酸化に対して防御する。負傷した細胞は、ラジカルスカベンジャーをつくる能力が低下する。過剰な過酸化水素がDNAと反応して主鎖破壊を起こし、突然変異を起こし、そして塩基を変えて

放してしまう。過酸化水素は、ピリミジンと反応して5,6-二重結合を開く。

この反応は、ピリミジンが相補的塩基と水素結合する能力を阻害する。Hallanderら(1971)。このような酸化的生化学的損傷は、細胞膜完全性の損失、酵素活動の低下、移送速度の変化、膜脂質含有量の変化、カリウムイオン、アミノ酸及び他の細胞物質の漏れを生じさせる。

酸化防止剤は、活性酸素種に関連する損傷を阻害することが分かっている。例えば、ピルベート及び他の α -ケト酸は、過酸化水素と迅速かつ化学量論的に反応して細胞を細胞溶解作用から保護することが報告されている。O'Donnell-Tormy ら, J. Exp. Med.165, pp. 500-514(1987)。

Van Scott らに付与された米国特許第3,920,835号、3,984,556号及び3,988,470号は、それぞれ、アクネ、ふけ、及び掌角化症を治療する方法を示しており、これらは、 α -ヒドロキシ酸、 α -ケト酸及びそのエステル、及び3-ヒドロキシブチル酸からなる群から選択される2～6の炭素原子を含有する約1%～20%の低級脂肪族化合物を薬学的に許容できるキャリア中を含む局所組成物を患部に塗布することからなる。これら脂肪族化合物は、ピルビン酸及び乳酸を包含する。

Yu らに付与された米国特許第4,105,783号及び米国特許第4,197,316号は、それぞれ、 α -ヒドロキシ酸、 β -ヒドロキシ酸及び α -ケト酸のアミド及びアンモニウム塩からなる群から選択される約1%～約20%の化合物を薬学的に許容できるキャリア中を含む局所組成物を患部に塗布することからなる乾燥皮膚を処置する方法及び組成物を開示している。これら化合物は、ピルビン酸及び乳酸のアミド及びアンモニウム塩を含む。

Van Scott らに付与された米国特許第4,234,599号は、 α -ヒドロキシ酸、 β -ヒドロキシ酸、及び α -ケト酸からなる群から選択される有効量の化合物を薬学的に許容できるキャリア中を含む局所組成物を患部に塗布することからなる紫外線及び非紫外線皮膚角化症を治療する方法を開示している。この酸性化合物は、ピルビン酸及び乳酸を含む。

Wildnauer らに付与された米国特許第4,294,852号は、Van Scott らによって開示された α -ヒドロキシ酸、 β -ヒドロキシ酸、及び α -ケト酸をC₃～

C₈脂肪族アルコールと一緒に含む、皮膚を治癒するための組成物を開示している。

Veesh に付与された米国特許第4,663,166号は、それぞれ20:1~1:1の比でL-ラクテートとビルベートの混合物、又はそれぞれ6:1~0.5:1の比でD-β-ヒドロキシブチレート及びアセトアセテートの混合物を含む電解溶液を開示している。

ビルビン酸ナトリウムはアセチルサリチル酸によって生じるモルモット及びマウスの胃粘膜上のびらん、潰瘍、及び出血の数を減少させると報告されている。アセチルサリチル酸の鎮痛及び解熱性は、ビルビン酸ナトリウムによって損なわれない。Puschmann, *Arzneimittelforschung*, 33, p.410-415 及び 415-416(1983)。

ビルベートは、不可逆的損傷をもたらさない短期間の環状動脈閉塞の後の長期の心室機能不全である一時的筋麻痺において正の筋肉収縮作用を発揮することが報告されている。Mentzer ら, *Ann. Surg* 209, pp. 629-633(1989)。

ビルベートは、左心室圧力及びワークパラメータの相対的安定性をもたらして梗塞の大きさを小さくすることが報告されている。ビルベートは心臓の自発的鼓動の再開及び正規の速度及び圧力上昇の回復を向上させる。Bungerら, *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 18, pp.423-438(1986)、Mochizuki ら, *J. Physiol. (paris)*, 76, pp.805-812(1980)、Regiz ら, *Cardiovasc. res*, 15, pp.652-658(1981)、Giannelli ら, *Ann. Thrac. Surg*, 21, pp.386-396(1976)。

ビルビン酸ナトリウムは、(おそらく、シアノヒドリンの形成を通して)シアナイド中毒に対するアンタゴニストとして作用すること及び硫化ナトリウムの致命的作用に対して保護すること及び軸索のアクリルアミド神経疾患の機能的、形態学的、及び生化学的手段の始まり及び進展を遅らせることが報告されている。Schwartzら, *Toxicol., Appl. Pharmacol.*, 50, pp.437-442(1979)、Sabri ら, *Brain Res.*, 483, pp.1-11(1989)。

異常に変形した赤血球を正常に戻すためにビルビン酸ナトリウムを使用するL1210の進んだ白血病の化学療法が報告されている。変形した赤血球は、腫瘍細胞への十分な薬剤送達を阻止した。Cohen, *Cancer Chemother., Pharmacol.*, 5

pp.175-179(1981)。

in vivo で 7,12-ジメチルベンズ(a)アンスラセンに曝露された異所気管移植片の一次培養物は、インターロイキン-2で刺激された末梢血リンパ球、及びプラズマ細胞及びハイブリドーマ、豚の胚胎、及びヒトの胚盤胞の培養物と共にビルビン酸ナトリウムを補充した富化培地でうまく維持されることが報告された。Shacter, J. Immunol. Methods, 99, pp. 259-270(1987)、Marchok ら, Cancer Res., 37, pp.1811-1821(1977)、Davis, J. Reprod. Fertil. Suppl., 33, pp.115-124(1985)、Okamoto ら, No To Shinkei, 38, pp.593-598(1986)、Cohen ら, J. In Vitro Fert. Embryo Transfer, 2, pp.59-64(1985)。

Stanko に付与された米国特許第4,158,057号、4,351,835号、4,415,576号及び4,645,764号は、それぞれ、アルコールの摂取による哺乳動物の肝臓における脂肪の蓄積を防止するため、哺乳動物の体重を制御するため、哺乳動物のタンパク質濃度を増加しながら体脂肪を抑制するため、及び生物の体脂肪の堆積を制御するための方法を開示している。これら方法は、ビルベート及びジヒドロキシアセトン及び場合によってはリボフラビンの治療用混合物を哺乳動物に投与することを含む。Stanko に付与された米国特許第4,548,937号は、治療的有効量のビルベート及び場合によりリボフラビンを哺乳動物に投与することを含む哺乳動物の体重増加を制御する方法を開示している。Stanko に付与された米国特許第4,812,479号は、治療的有効量のジヒドロキシアセトンと場合によってはリボフラビンとビルベートを哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物の体重増加を制御する方法を開示している。

ビルビン酸ナトリウムを含むカルシウムオキサレート結石生成性飼料を供給されたマウスは、ビルビン酸ナトリウムが与えられない対照のマウスよりも尿結石(石)が少ないことが報告された。Ogawa ら, Hinyokika Kyo, 32, pp.1341-1347(1986)。

Houlsby に付与された米国特許第4,521,375号は、生きた組織に接触することになる表面を殺菌する方法を開示している。この方法は、過酸化水素水で

表面を殺菌した後、ビルビン酸でその表面を中和することを含む。

Tauda らに付与された米国特許第4,416,982号は、ペルオキシダーゼの

存在下で、フェノール及びアニリン誘導体に過酸化水素を反応させることによって過酸化水素を分解する方法を開示している。

Lindstrom らに付与された米国特許第4,696,917号は、アール塩、硫酸コンドロイチン、緩衝溶液、2-メルカプトエタノール及びビルベートを有するイーグル最小必須培地を含む目の洗浄溶液を開示している。この洗浄溶液は、場合によってアスコルビン酸及び α -トコフェロールを含むことができる。Lindstrom らに付与された米国特許第4,725,586号は、平衡塩類溶液、硫酸コンドロイチン、緩衝溶液、2-メルカプトエタノール、重炭酸ナトリウム又はデキストロース、ビルベート、リン酸ナトリウム緩衝系、及びシスチンを含む洗浄溶液を開示している。この洗浄溶液は、場合によりアスコルビン酸及び α -トコフェロールを含むことができる。

Baldwin に付与された米国特許第3,887,702号は、大豆油又はひまわり油をビタミンEと組み合わせて本質的になるゆびの爪及び足の爪を処置する組成物を開示している。

Bissett らに付与された米国特許第4,847,069号は、(a)ソルボヒドロキサム酸、(b)ステロイド系抗炎症剤及び天然抗炎症剤から選択される抗炎症剤、及び(c)局所キャリアを含む光防護組成物を開示している。脂肪酸が皮膚軟化剤として存在してもよい。Bissett らに付与された米国特許第4,847,071号は、(a)トコフェロール又はトコフェロールエステルラジカルスケベンジャー、(b)ステロイド系抗炎症剤及び天然抗炎症剤から選択される抗炎症剤、及び(c)局所キャリアを含む光防護組成物を開示している。Bissett らに付与された米国特許第4,847,072号は、局所キャリア中に25%以下のソルビン酸トコフェロールを含む局所組成物を開示している。

Yamane らに付与された米国特許第4,533,637号は、炭素源、核酸源前駆体、アミノ酸、ビタミン、ミネラル、脂質親和性栄養源、及び血清アルブミン、及びシクロデキストリンを含む培地を開示している。この親脂性物質は、不飽

和脂肪酸とビタミンA、D及びEのような親脂性ビタミンを含む。アスコルビン酸が存在してもよい。

Kovar らに付与された英国特許出願第2,196,348A号は、合成培地を開示しており、この培地は、無機塩、モノサッカライド、アミノ酸、ビタミン、緩衝剤、及び場合によりビルビン酸ナトリウムを含み、場合によりそのエマルジョンに水酸化マグネシウム又は酸化マグネシウムを加える。

Yu らに付与された米国特許第4,284,630号は、水中油エマルジョンを安定化する方法であって、そのエマルジョンに水酸化マグネシウム又は酸化マグネシウムを加えることを含む方法を開示している。その油相は鶏脂を含んでもよい。

プレパレーションH™は、人工的につくられた直腸潰瘍中の創傷治癒速度を高めることが報告されている。プレパレーションH™中の有効成分は、皮膚呼吸因子及びさめの肝油である、Subramanyam ら, Digestive Disease and Sciences, 29, pp.829-832(1984)。

ビルビン酸ナトリウムを細菌及び酵母系に添加すると、過酸化水素の生成を阻害し、成長を促進し、反応性酸素中間体の毒性に対してその系を保護することが報告されている。鶏脂内に含まれる不飽和脂肪酸及び飽和脂肪酸が膜の修復を促進させて細胞毒を減少させたのである。酸化防止剤グルタチオン及びチオグリコレートは、酸素ラジカル種によって誘発された負傷を減少させた。Martin, Ph.D. thesis(1987-1989)。

Robinson に付与された米国特許第4,615,697号は、治療剤と、水膨潤性であるが水不溶性の繊維状架橋カルボキシ機能性ポリマーを含む生体接着剤とを含む放出制御型治療組成物を開示している。

Kellaway らに付与されたヨーロッパ特許出願第0410696A1は、治療剤と、砂糖、シクリトール、又は低級多価アルコールのような約1～約20重量%のポリヒドロキシ化合物で架橋されたポリアクリル酸とを含む粘膜付着性送達系を開示している。

トレチノイン (Retin-ATM) は、尋常性アクネの局所処置に必要とされる。トレチノインの作用の正確な様式は不明であるが、トレチノインは汙胞上皮細胞の凝集性を減少させてマイクロコメドの形成を減少させると考えられる。トレチノインは、有糸分裂活性を刺激してコメドンの噴き出しを起こさせる汙胞上皮細胞のターンオーバーを増加させもする。トレチノインは汙胞上皮細胞の凝集性を減少させるので、トレチノインはシワを減少させるのにも用いられる。

トレチノインの局所的使用は、かなりの個体の皮膚を過剰に赤くさせる、浮腫性疱疹を生じさせる、又は外殻を生じさせることが知られている。また、局所的使用は、適用部位に重い局部紅斑及び皮膚剥脱を誘発させ得る。これら作用が生じたときは、その医薬品を中断するか又は患者が耐え得るレベルまで投与量を低下させるかする。トレチノインの局所的使用は、日光並びに風又は寒さのような天候といった両極端に対する感受性も高め得る。加えて、表皮剥脱性石鹼及びクリンジング剤及び強い乾燥作用を有する石鹼及び化粧料の如き他の局所用医薬品との薬剤相互作用も問題である。

発明の概要

本発明は、尋常性アクネの局所処置に有用な治療用アクネ処置用創傷治癒組成物に関する。この組成物は、治療的有効量のトレチノイン及び創傷治癒組成物及び／又はその代謝産物を含む。一態様において、この創傷治癒組成物は、(a) ビルビン酸、薬学的に許容できるビルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるビルベート；(b) 酸化防止剤；及び(c) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物を含む。この治療用アクネ処置用創傷治癒組成物は、多種多様な医薬製品に用いることができる。この発明は、そのアクネ処置用創傷治癒組成物を製造及び使用する方法及びその治療用組成物が用いられ得る医薬製品にも関する。この発明は、その治療用アクネ処置用創傷治癒組成物をシワを処置するために用いる方法にも関する。

この発明は、更に、アクネ処置剤及び治療用創傷治癒組成物を、創傷を処置するのに有用な1又はそれ以上の追加の医薬品と組み合わせて含む、増補治療用ア

クネ処置用創傷治癒組成物も含む。この発明は、その増補治療用アクネ処置用創傷治癒組成物を製造及び使用する方法及びその増補組成物が用いられ得る医薬製品にも関する。

図面の簡単な説明

第1図は、種々の酸化防止剤にU937単核細胞を曝した後の該細胞の生存率を棒グラフで示したものである（実施例1～5）。

第2図は、種々の酸化防止剤の組み合わせにU937単核細胞を曝した後の該細胞の生存率を棒グラフで示したものである（実施例6～13）。

第3図は、種々の酸化防止剤の組み合わせにU937単核細胞を曝した後の該細胞によって産生される過酸化水素のレベルを棒グラフで示したものである（実施例14～18）。

第4図は、種々の酸化防止剤の組み合わせにU937単核細胞を曝した後の該細胞によって産生される過酸化水素のレベルを棒グラフで示したものである（実施例19～26）。

第5図は、飽和及び不飽和脂肪酸の混合物と共に及び混合物なしに、種々の酸化防止剤の組み合わせにU937単核細胞を曝した後の該細胞によって産生される過酸化水素のレベルを棒グラフで示したものである（実施例27～32）。

第6図は、飽和及び不飽和脂肪酸の混合物と共に及び混合物なしに、種々の酸化防止剤に表皮ケラチノサイトを曝した後の該細胞によって産生される過酸化水素のレベルを棒グラフで示したものである（実施例33～42）。

第7図は、飽和及び不飽和脂肪酸の混合物と共に及び混合物なしに、種々の酸化防止剤の組み合わせに表皮ケラチノサイトを曝した後の該細胞によって産生される過酸化水素のレベルを棒グラフで示したものである（実施例43～52）。

第8図は、創傷治癒組成物の個々の成分、創傷治癒組成物の種々の組み合わせ、及び創傷治癒組成物に対して、表皮ケラチノサイトを曝した後の該細胞によって産生される過酸化水素のレベルの概略的な分析を棒グラフで示したものである。

第9図は、プレパレーションH（実施例A）；生酵母細胞誘導体、サメ油、及

びピルビン酸ナトリウム、ビタミンE及び鶏脂の混合物を含有するペトロラタム基剤配合物（実施例B）；生酵母細胞誘導体及びサメ油を含有するペトロラタム基剤配合物（実施例C）；及び組成物なし（実施例E、対照）での4日間の処置後の創傷を負ったマウスの写真である。

第10図は、ペトロラタム基剤配合物のみでの4日間の治療後の創傷を負ったマウスの写真である（実施例D）。

発明の詳細な説明

この発明は、トレチノイン及び創傷治療組成物を含む治療用アクネ処置用創傷治療組成物に関する。一態様においては、この創傷治療組成物は、（a）ピルビン酸、薬学的に許容できるピルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるピルベート；（b）酸化防止剤；及び（c）飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物を含む。

トレチノインは尋常性アクネの局所処置に有用であるが、過剰な赤色化、浮腫性疱疹又は外殻形成、及び適用部位に重い局部紅斑及び皮膚剥脱を誘発することが知られている。創傷治療組成物は、哺乳動物細胞の回復速度及び死んだ細胞と置き換わるための新たな哺乳動物細胞の増殖速度を高めることができるが、尋常性アクネを治療することはできない。出願人は、トレチノインと創傷治療組成物との組み合わせが、尋常性アクネの期間と重さ及びトレチノインの使用に伴う過敏症を軽減する治療用アクネ処置用創傷治療組成物をもたらすことを見出した。この発明は、その治療用アクネ処置用創傷治療組成物をシワを処置するために用いる方法にも関する。

出願人は、哺乳動物細胞の負傷を防止及び低減し、かつ負傷した哺乳動物細胞の回復速度を高める治療用創傷治療組成物を発見した。本発明の治療用創傷治療組成物で処置された細胞は、過酸化水素生成のレベルの低下、細胞毒物質に対する抵抗の増大、増殖速度の増加、及び活力の増大を示す。本治療用創傷治療組成物を含有する細胞培養物は、対照培養物よりも増大した分化と増殖を示し、そして細胞間の付着又はしっかりした接合を急速に形成して上皮シートを形成した。

本治療用創傷治癒組成物で処置された創傷哺乳動物は、処置されない哺乳動物及び従来の治癒組成物で処置された哺乳動物よりも有意に向上した創傷癒合性及び治癒性を示す。本創傷治癒組成物は、単独で用いても他の医薬品と組み合わせて用いてもよい。

この発明の治療用創傷治癒組成物はエンボディメント1として記載されている。

エンボディメント1には幾つかの側面がある。第1の側面(I.A)においては、本治療用創傷治癒組成物は、(a)ピルビン酸、薬学的に許容できるピルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるピルベート、(b)酸化防止剤及び、(c)飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物を含む。エンボディメント1の第2の側面(I.B)においては、本治療用創傷治癒組成物は、(a)ピルビン酸、薬学的に許容できるピルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるピルベート、(b)乳酸、薬学的に許容できる乳酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるラクテート、及び(c)飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物を含む。エンボディメント1の第3の側面(I.C)においては、本治療用創傷治癒組成物は、(a)酸化防止剤、及び(b)飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が哺乳動物の細胞の細胞膜の修復及び回復に必要な脂肪酸である混合物を含む。エンボディメント1の第4の側面(I.D)においては、本治療用創傷治癒組成物は、(a)乳酸、薬学的に許容できる乳酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるラクテート、(b)酸化防止剤、及び(c)飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物を含む。

この発明の治療用創傷治癒組成物は、更にトレチノインと組み合わせられ、尋常性アクネの局所処置に用いられる。その結果得られる治療用アクネ処置用創傷治癒組成物は、尋常性アクネの期間と重さ及びトレチノインの使用に伴う過敏症を軽減する。この発明は、この治療用アクネ処置用創傷治癒組成物をシワを処置す

るために用いる方法にも関する。

この発明の治療用アクネ処置用創傷治癒組成物を、更に、創傷を処置するための1又はそれ以上の追加の医薬品と組み合わせて、増補アクネ処置用創傷治癒組成物を形成することもできる。この発明は、この増補治療用アクネ処置用創傷治癒組成物を製造及び使用する方法及びその増補組成物が用いられ得る医薬製品にも関する。

本明細書で用いられる“負傷した細胞”という用語は、何らかの理由で何らかの活動が破壊された細胞を意味する。例えば、負傷した細胞は、傷ついた膜又は損傷したDNA、RNA及びリボゾームを有する細胞、例えば、(a)負傷した膜を有するためにその膜を通る移送が行われず、細胞内の毒素及び正常細胞の廃棄物が増加しそして細胞内の細胞修復に必要な栄養分及び他の成分が減少している細胞、(b)酸化防止剤及び酵素を生成する細胞の能力が減少するために細胞内の酸素ラジカルの濃度が増加している細胞、又は(c)正常細胞の機能が回復する前に修復又は置換されなければならない損傷のあるDNA、RNA及びリボゾームを有する細胞であり得る。本明細書で用いられる負傷した哺乳動物細胞の“回復”という用語は、細胞毒の反転、細胞膜の安定化、細胞の増殖速度の増加、及び／又は成長因子、ホルモン等の分泌のような細胞機能の正常化を意味する。本明細書で用いられる“細胞毒”という用語は、細胞を負傷させる細胞毒物質によって生じる状態を意味する。負傷した細胞は細胞の修復に全エネルギーを消費するため、負傷した細胞は増殖しない。組織の修復を補助すると細胞の増殖が推進される。

本明細書中で用いられる“プロドラッグ”という用語は、薬理学的作用を示す前に生物変換される化合物を意味する。薬学的問題を克服するための薬物の化学修飾は“薬物潜伏化”とも称されている。薬物潜伏化は、in vivo 酵素攻撃で親化合物を放出する新規化合物を形成するための生物学的活性化合物の化学修飾である。親化合物の化学的変更は、物理化学的性質の変化が、吸収、分布及び酵素代謝に影響を与えるような変更である。薬物潜伏化の定義は、親化合物の非酵素的再生を包含するように拡大されもしている。再生は、加水分解、解離及び、必

ずしも酵素に媒介されない他の反応の結果として起こる。プロドラッグ、潜伏化薬物、及び生体可逆的誘導体という用語が同じ意味に用いられる。推論すると、潜伏化とは、生物活性親分子を *in vivo* で再生する場合に必要とされるタイムラグ要素又は時間成分を暗に示している。プロドラッグという用語は、それが、潜伏化薬物誘導体だけでなく、投与後に受容体と結合する実際の物質に変換される物質も包含するという点で広い意味を有する。プロドラッグという用語は、薬理学的作用を示す前に生物変換される薬剤の総称である。投与された薬物が活性物質ではなくむしろ活性物質に生物変換される場合、“プロドラッグ”という用

語は、必ずしも投与薬物への生物変換を受ける必要はないが、所望の薬理学的作用を示す活性物質へと生物変換されることが出来る化合物を更に包含する。

本明細書中で用いられる“代謝産物”という用語は、代謝によって又は代謝過程によって産生されるあらゆる物質を意味する。本明細書中で用いられる“代謝”とは、組織及びそこにある細胞中で起こる分子又は化合物の変換に関与する種々の化学反応を意味する。

I. 創傷治癒組成物

A. エンボディメント 1 (I.A～D)

本発明の治療用創傷治癒組成物で処置され得る細胞は、哺乳動物細胞である。出願人は、本治療用創傷治癒組成物を、哺乳動物表皮ケラチノサイト及び哺乳動物単球を処置するのに有用であると記載するが、出願人は、該治療用創傷治癒組成物を用いて全ての哺乳動物細胞を防護又は回復させうると考えている。ケラチノサイトは正常な哺乳動物細胞を代表するものであって、体内で最も速く増殖する細胞である。負傷及び治療に対するケラチノサイトの反応と哺乳動物細胞のそれとの間の相関は、概して非常に高い。単球は、免疫系における白血球、及び肝臓、腎臓、心臓及び脳の臓器細胞のような特殊な哺乳動物細胞を代表するものである。哺乳動物細胞は、*in vivo* 及び *in vitro* で処置することができる。

表皮ケラチノサイトは、ケラチン、つまり表皮、毛髪、爪、角質組織、及び歯のエナメル質の有機基質の主成分である硬タンパク質を合成する表皮の特殊な上皮細胞である。哺乳動物表皮ケラチノサイトは、表皮細胞の約95%を構成し、

そしてメラノサイトと一緒に表皮の二重系を形成する。その様々な連続した層において、表皮ケラチノサイトは、基底細胞、有棘細胞、及び顆粒細胞としても知られている。

単球は、レスピラトリバーستを経てしかも表皮中の反応性酸素に媒介される損傷に関与している単核食細胞白血球である。白血球は、二つの主要なグループ、すなわち、細胞質中に豊富な顆粒を含む白血球である顆粒性白血球（顆粒球）と、細胞質中に具体的な顆粒を含まない白血球であり且つリンパ球及び単球を包含する非顆粒性白血球（非顆粒球）とに分類されうる白色血球又は小体である。食細胞は、微生物又は他の細胞及び外来粒子を消化する細胞である。単球は、大

型単核白血球及びヒアリン性又は移行型白血球としても知られている。

表皮ケラチノサイト細胞及び単球細胞は、多数の酸素発生メカニズムを有し、そしてそれぞれの種類のメカニズムが機能する程度は、それぞれの細胞の種類で異なる。例えば、単球においては、レスピラトリバーست過程は表皮ケラチノサイトの場合よりも顕著である。したがって、本発明の治療用創傷治癒組成物中の成分は、処置される症状に関与した細胞の種類に応じて変動させることができる。

上記のように、エンボディメント1の第1の側面（I.A）においては、哺乳動物細胞、好ましくは、表皮ケラチノサイトを処置するための治療用創傷治癒組成物は、（a）ビルビン酸、薬学的に許容できるビルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるビルベート、（b）酸化防止剤、及び（c）飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物を含む。エンボディメント1の第2の側面（I.B）においては、哺乳動物細胞、好ましくは、表皮ケラチノサイトを処置するための治療用創傷治癒組成物は、（a）ビルビン酸、薬学的に許容できるビルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるビルベート、（b）乳酸、薬学的に許容できる乳酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるラクテート、及び（c）飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪

酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物を含む。エンボディメント1の第3の側面(I.C)においては、哺乳動物細胞、好ましくは、表皮ケラチノサイトを処置するための治療用創傷治癒組成物は、(a)酸化防止剤、及び(b)飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物を含む。エンボディメント1の第4の側面(I.D)においては、哺乳動物細胞、好ましくは、単球を処置するための治療用創傷治癒組成物は、(a)乳酸、薬学的に許容できる乳酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるラクテート、(b)酸化防止剤、及び(c)飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物を含む。

ピルビン酸(2-オキソプロパン酸、 α -ケトプロピオン酸、 CH_3COCO

OH)又はピルベートは、タンパク質及び炭水化物代謝における、及びクエン酸回路における基本的な中間体である。クエン酸回路(トリカルボン酸回路、クレブス回路)は、呼吸組織において有機化合物を酸化することによってアデノシン三リン酸(ATP)を生じて電子を伝達系に与える酸素の還元を行う主要な反応連鎖である。アセチル補酵素A(活性アセチル)はこの過程で酸化され、その後、種々の生物学的過程で利用され、そして多数の脂肪酸及びステロールの生合成の前駆物質となる。二つの主要なアセチル補酵素A源は、グルコース及び脂肪酸の代謝から誘導される。解糖は、グルコース分子それぞれが細胞質中で変換されて2分子のピルビン酸になる一連の変換からなる。次に、ピルビン酸は、ミトコンドリアに入ることができ、そこで、それはアセチル補酵素Aに対する酵素及び補助因子の存在下で補酵素Aによって酸化される。次に、アセチル補酵素Aはクエン酸回路に入ることができる。

筋肉内において、(グリコーゲンから誘導された)ピルビン酸は、運動中に起こり得る嫌氣的代謝の際に乳酸へと還元されうる。乳酸は、休息中に再酸化されて部分的にグリコーゲンに再変換される。ピルベートは、酸化防止剤として作用して細胞中の酸素ラジカルを中和することもできそして細胞毒を反転させる多機能オキシダーゼ系において用いられることもできる。

本発明におけるビルベートは、ビルビン酸、薬学的に許容できるビルビン酸の塩、ビルビン酸のプロドラッグ、及びそれらの混合物からなる群から選択されうる。概して、薬学的に許容できるビルビン酸の塩は、アルカリ塩及びアルカリ土類塩でありうる。好ましくは、ビルベートは、ビルビン酸、ビルビン酸リチウム、ビルビン酸ナトリウム、ビルビン酸カリウム、ビルビン酸マグネシウム、ビルビン酸カルシウム、ビルビン酸亜鉛、ビルビン酸マンガン、ビルビン酸メチル、 α -ケトグルタル酸、及びそれらの混合物からなる群から選択される。より好ましくは、ビルベートは、ビルビン酸ナトリウム、ビルビン酸カリウム、ビルビン酸マグネシウム、ビルビン酸カルシウム、ビルビン酸亜鉛、ビルビン酸マンガン等、及びそれらの混合物からなる群から選択される。最も好ましくは、ビルベートはビルビン酸ナトリウムである。

本発明の治療用創傷治癒組成物中に存在するビルベートの量は、治療的有効量である。ビルベートの治療的有効量とは、本発明の組成物が哺乳動物細胞の負傷を防止し且つ低減させるのに又は負傷した哺乳動物細胞の回復速度を増加させるのに必要なビルベートの量である。ビルベートの正確な量は、処置される症状の種類、並びに組成物中の他の成分などの因子によって決まる選択の問題である。好ましい態様において、ビルベートは、治療用創傷治癒組成物中に、治療用創傷治癒組成物の約10重量%～約50重量%、好ましくは約20重量%～約45重量%、そしてより好ましくは約25重量%～約40重量%の量で存在する。

L-乳酸（（S）-2-ヒドロキシプロパン酸、（+） α -ヒドロキシプロピオン酸、 $\text{CH}_3\text{CHOHCOOH}$ ）又はラクテートは、哺乳動物の血液及び筋液中に少量で存在する。乳酸濃度は、激しい活動後に筋肉及び血液中で増加する。ラクテートは細胞フィードバックメカニズムの成分であり、そして細胞の自然レスピラトリバーサス過程を阻害することによって酸素ラジカルの生成を抑制する。

本発明におけるラクテートは、乳酸、薬学的に許容できる乳酸の塩、乳酸のプロドラッグ、及びそれらの混合物からなる群から選択されうる。概して、薬学的に許容できる乳酸の塩は、アルカリ塩及びアルカリ土類塩でありうる。好ましく

は、ラクテートは、乳酸、乳酸リチウム、乳酸ナトリウム、乳酸カリウム、乳酸マグネシウム、乳酸カルシウム、乳酸亜鉛、乳酸マンガン等、及びそれらの混合物からなる群から選択される。より好ましくは、ラクテートは、乳酸、乳酸ナトリウム、乳酸カリウム、乳酸マグネシウム、乳酸カルシウム、乳酸亜鉛、乳酸マンガン、及びそれらの混合物からなる群から選択される。最も好ましくは、ラクテートは乳酸である。

本発明の治療用創傷治癒組成物中に存在するラクテートの量は、治療的有効量である。ラクテートの治療的有効量とは、本発明の組成物が哺乳動物細胞の負傷を防止し且つ低減させるのに又は負傷した哺乳動物細胞の回復速度を増加させるのに必要なラクテートの量である。摂取可能な組成物については、ラクテートの治療的有効量は、白血球のレスピラトリーバースト過程を抑制して哺乳動物細胞を保護し且つ回復させるのに必要な量である。概して、摂取可能な組成物中のラクテートの治療的有効量は、血清中で普通に見出されるラクテートの量の約5倍

〜約10倍である。ラクテートの正確な量は、処置される症状の種類、並びに組成物中の他の成分などの因子によって決まる選択の問題である。好ましい態様においては、ラクテートは、治療用創傷治癒組成物中に、治療用創傷治癒組成物の約10重量%〜約50重量%、好ましくは約20重量%〜約45重量%、そしてより好ましくは約25重量%〜約40重量%の量で存在する。

酸化防止剤は、酸化反応を阻害するか又は酸素若しくは過酸化物によって促進される反応を抑制する物質である。酸化防止剤、特に、脂溶性酸化防止剤は、細胞膜中に吸収されて酸素ラジカルを中和し、それによって膜を保護することができる。本発明において有用な酸化防止剤は、ビタミンA（レチノール）の全ての形；ビタミン₂（3,4-ジデヒドロレチノール）の全ての形； α -カロチン、 β -カロチン、 γ -カロチン、 δ -カロチンなどのカロチンの全ての形；ビタミンC（D-アスコルビン酸、L-アスコルビン酸）の全ての形；ビタミンE（ α -トコフェロール、3,4-ジヒドロ-2,5,7,8-テトラメチル-2-（4,8,12-トリメチルトリデシル）-2H-1-ベンゾピラン-6-オール）、 β -トコフェロール、 γ -トコフェロール、 δ -トコフェロールなどのトコフェロー

ルの全ての形；トコキノン；トコトリエノール；及び酢酸ビタミンE及びコハク酸ビタミンEなどの容易に加水分解されてビタミンEになるビタミンEエステル；及びリン酸ビタミンEなどの薬学的に許容できるビタミンE塩；ビタミンA、カロチン、ビタミンC及びビタミンEのプロドラッグ；ビタミンA、カロチン、ビタミンC及びビタミンEの薬学的に許容できる塩等；並びにそれらの混合物からなる群から選択されうる。好ましくは、酸化防止剤は、ビタミンA、 β -カロチン、ビタミンE、酢酸ビタミンE；及びそれらの混合物からなる脂溶性酸化防止剤の群から選択される。より好ましくは、酸化防止剤は、ビタミンE又は酢酸ビタミンEである。最も好ましくは、酸化防止剤は酢酸ビタミンEである。

本発明の治療用創傷治癒組成物中に存在する酸化防止剤の量は、治療的有効量である。酸化防止剤の治療的有効量とは、本発明の組成物が哺乳動物細胞の負傷を防止し且つ低減させるのに又は負傷した哺乳動物細胞の回復速度を増加させるのに必要な酸化防止剤の量である。酸化防止剤の正確な量は、処置される症状の種類、更には組成物中の他の成分などの因子によって決まる選択の問題である。

好ましい態様においては、酸化防止剤は、治療用創傷治癒組成物中に、治療用創傷治癒組成物の約0.1重量%～約40重量%、好ましくは約0.2重量%～約30重量%、そしてより好ましくは約0.5重量%～約20重量%の量で存在する。

本発明における飽和及び不飽和脂肪酸の混合物は、哺乳動物細胞膜の修復及び新しい細胞の生産に必要な脂肪酸である。脂肪酸は、動物及び植物性油脂中で見出されるカルボン酸化合物である。脂肪酸は脂質として分類され、4～22個の炭素原子及び0～3個の二重結合を有するアルキル基の鎖から成り、そして末端のカルボキシル基、つまり-COOHにより特徴付けられる。脂肪酸は飽和であっても不飽和であってよく、そして固体、半固体又は液体であってよい。最も一般的な飽和脂肪酸は、酪酸(C₄)、ラウリン酸(C₁₂)、パルミチン酸(C₁₆)及びステアリン酸(C₁₈)である。不飽和脂肪酸は、通常は植物から誘導され、そして特徴的な末端カルボキシル基を有する16～22個の炭素原子及び0～3個の二重結合を有するアルキル鎖からなる。最も一般的な不飽和脂肪酸は、オ

レイン酸、リノール酸、及びリノレン酸（いずれも C_{18} の酸）である。

概して、本発明における哺乳動物細胞膜の修復に必要な飽和及び不飽和脂肪酸の混合物は、動物及び植物の脂肪及びワックス、本発明において有用な飽和及び不飽和脂肪酸のプロドラッグ、及びそれらの混合物から誘導されうる。例えば、本治療用創傷治癒組成物中の脂肪酸は、モノー、ジー若しくはトリグリセリド又はフリーの脂肪酸、又はそれらの混合物の形であってよく、それらは負傷した細胞の修復に容易に利用可能である。細胞は、細胞の活力に必要な化学的成分及びエネルギーを生産し、そして余分のエネルギーを脂肪の形で蓄える。脂肪は、身体の臓器間に蓄えられてエネルギーの貯蔵供給を与える脂肪組織である。好ましい動物性脂肪及びワックスは、人脂及びヒト母乳中に含まれる脂肪の脂肪酸組成と類似の組成を有する。好ましい動物性脂肪及びワックスは、人脂、鶏脂、牛脂（本明細書中において性別又は年齢と無関係に家畜牛として定義される）、羊脂、馬脂、豚脂及び鯨脂からなる群から選択されうる。より好ましい動物性脂肪及びワックスは、人脂及び鶏脂からなる群から選択されうる。最も好ましい動物性脂肪は人脂である。植物性ワックス（特に、ヒマワリ油）、海産油（特に、サメ肝油）、及び合成ワックス及び油などの他の脂肪及びワックスの混合物は、動物性

脂肪及びワックスの脂肪酸組成、好ましくは、人の脂肪及びワックスのそれと類似の組成を有し、それらもまた用いることができる。

好ましい態様において、飽和及び不飽和脂肪酸の混合物は、人脂の組成と類似の組成を有し且つ次の脂肪酸を含む。すなわち、酪酸、カプロン酸、カプリル酸、カプリン酸、ラウリン酸、ミリスチン酸、ミリストレイン酸、パルミチン酸、パルミトレイン酸、ステアリン酸、オレイン酸、リノール酸、リノレン酸、アラキジン酸、及びガドレイン酸を含む。好ましくは、酪酸、カプロン酸、カプリル酸、カプリン酸、ラウリン酸、ミリスチン酸、ミリストレイン酸、パルミチン酸、パルミトレイン酸、ステアリン酸、オレイン酸、リノール酸、リノレン酸、アラキジン酸、及びガドレイン酸は、この混合物中にそれぞれほぼ次の重量％で存在する（炭素鎖数及び不飽和結合数をそれぞれ括弧内に示す）：0.2％～0.4

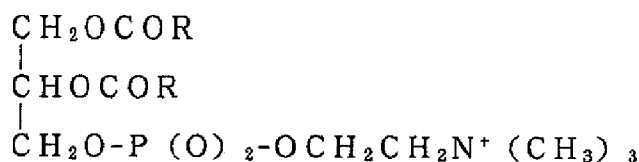
% (C₄)、0.1% (C₆)、0.3%~0.8% (C₈)、2.2%~3.5% (C₁₀)、0.9%~5.5% (C₁₂)、2.8%~8.5% (C₁₄)、0.1%~0.6% (C_{14:1})、23.2%~24.6% (C₁₆)、1.8%~3.0% (C_{16:1})、6.9%~9.9% (C₁₈)、36.0%~36.5% (C_{18:1})、20%~20.6% (C_{18:2})、7.5%~7.8% (C_{18:3})、1.1%~4.9% (C₂₀)、及び3.3%~6.4% (C_{20:1})。

もう一つの好ましい態様においては、飽和及び不飽和脂肪酸の混合物は、典型的には、次の脂肪酸、すなわち、ラウリン酸、ミリスチン酸、ミリストレイン酸、ペンタデカン酸、パルミチン酸、パルミトレイン酸、マルガリン酸、マルガロレイン酸、ステアリン酸、オレイン酸、リノール酸、リノレン酸、アラキジン酸、及びガドレイン酸を含む鶏脂である。好ましくは、ラウリン酸、ミリスチン酸、ミリストレイン酸、ペンタデカン酸、パルミチン酸、パルミトレイン酸、マルガリン酸、マルガロレイン酸、ステアリン酸、オレイン酸、リノール酸、リノレン酸、アラキジン酸及びガドレイン酸は、混合物中にそれぞれほぼ次の重量%で存在する：0.1% (C₁₂)、0.8% (C₁₄)、0.2% (C_{14:1})、0.1% (C₁₅)、25.3% (C₁₆)、7.2% (C_{16:1})、0.1% (C₁₇)、0.1% (C_{17:1})、6.5% (C₁₈)、37.7% (C_{18:1})、20.6% (C_{18:2})、0.8% (C_{18:3})、0.2% (C₂₀)、及び0.3% (C_{20:1})、全

てのパーセンテージ±10%。

もう一つの好ましい態様において、飽和及び不飽和脂肪酸の混合物はレシチンを含む。レシチン（ホスファチジルコリン）は、全ての生きている生物（植物及び動物）において見出されるホスファチドであって、神経組織及び脳内物質の重要な成分である。レシチンは、リン酸のコリンエステルに結合した、ステアリン酸、パルミチン酸、及びオレイン酸のジグリセリドの混合物である。商業製品は、主として、大豆油の製造において副産物として得られる大豆レシチンである。大豆レシチンは、パルミチン酸11.7%、ステアリン酸4.0%、パルミトレイン酸8.6%、オレイン酸9.8%、リノール酸55.0%、リノレン酸4.0%、C₂₀~C₂₂酸（アラキドン酸を含む）5.5%を有する。レシチンは、下式によ

って表わすことができる。



式中、Rは、ステアリン酸、パルミチン酸、及びオレイン酸からなる群から選択される。

脂肪酸混合物中に存在する上記脂肪酸及びそれらのパーセンテージが、一例として示されている。脂肪酸混合物中に存在する脂肪酸の正確な種類及び脂肪酸混合物中で用いられる脂肪酸の正確な量は、最終製品で望まれる結果が得られるよう変動させることができ、このような変更は、過度の実験を必要とすることなく当業者の能力の範囲内である。

本発明の治療用創傷治癒組成物中に存在する脂肪酸の量は、治療的有効量である。脂肪酸の治療的有効量とは、本発明の組成物が哺乳動物細胞の負傷を防止し且つ低減させるのに又は負傷した哺乳動物細胞の回復速度を増加させるのに必要な脂肪酸の量である。用いられる脂肪酸の正確な量は、混合物中で用いられる脂肪酸の種類及び配分、処置される症状の種類、及び組成物中の他の成分などの因子によって決められる。好ましい態様においては、脂肪酸は、治療用創傷治癒組成物中に、治療用創傷治癒組成物の約10重量%～約50重量%、好ましくは約20重量%～約45重量%、そしてより好ましくは約25重量%～約40重量%

の量で存在する。

本発明によれば、哺乳動物細胞を処置するためのエンボディメント1の治療用創傷治癒組成物(I.A～D)は、

(I.A)(a) ビルビン酸、薬学的に許容できるビルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるビルベート；

(b) 酸化防止剤；及び

(c) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物；

(I . B) (a) ビルビン酸、薬学的に許容できるビルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるピルベート；

(b) 乳酸、薬学的に許容できる乳酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるラクテート；及び

(c) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物；

(I . C) (a) 酸化防止剤；及び

(b) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物；

(I . D) (a) 乳酸、薬学的に許容できる乳酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるラクテート；

(b) 酸化防止剤；及び

(c) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物；
からなる群から選択されうる。

好ましくは、哺乳動物細胞、好ましくは、表皮ケラチノサイトを処置するためのエンボディメント 1 (I) の創傷治癒組成物は、

(I . A) (a) ビルビン酸、薬学的に許容できるビルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるピルベート；

(b) 酸化防止剤；及び

(c) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物；

(I . B) (a) ビルビン酸、薬学的に許容できるビルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるピルベート；

(b) 乳酸、薬学的に許容できる乳酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるラクテート；及び

(c) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物；及び

(I . C) (a) 酸化防止剤；及び

(b) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物；
からなる群から選択されうる。

より好ましくは、哺乳動物細胞、好ましくは、表皮ケラチノサイトを処置するためのエンボディメント 1 (I) の創傷治癒組成物は、

(I . A) (a) ビルビン酸、薬学的に許容できるビルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるビルベート；

(b) 酸化防止剤；及び

(c) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物；及び

(I . C) (a) 酸化防止剤；及び

(b) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物；
からなる群から選択されうる。

より好ましくは、哺乳動物細胞、好ましくは、表皮ケラチノサイトを処置するためのエンボディメント 1 (I) の創傷治癒組成物は、

(I . A) (a) ビルビン酸、薬学的に許容できるビルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるビルベート；

(b) 酸化防止剤；及び

(c) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物；及び

(I . B) (a) ビルビン酸、薬学的に許容できるビルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるビルベート；

(b) 乳酸、薬学的に許容できる乳酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるラクテート；及び

(c) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物；

からなる群から選択されうる。

最も好ましくは、哺乳動物細胞、好ましくは、表皮ケラチノサイトを処置するためのエンボディメント1(I)の創傷治癒組成物は、

(I, A)(a) ビルビン酸、薬学的に許容できるビルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるビルベート；

(b) 酸化防止剤；及び

(c) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物を含む。

最も好ましくは、哺乳動物細胞、好ましくは、単球を処置するためのエンボディメント1(I)の創傷治癒組成物は、

(I, D)(a) 乳酸、薬学的に許容できる乳酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるラクテート；

(b) 酸化防止剤；及び

(c) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物を含む。

この全開示を通して、出願人は、治療用創傷治癒組成物及び抗ウイルス剤中の成分が一緒に予想外に相乗的に機能して、哺乳動物細胞の負傷を防止し且つ低減させ、負傷した哺乳動物細胞の回復速度を高め、そしてウイルス力価を減少させると出願人が考える様々な理論又はメカニズムを示唆するであろう。出願人は本発明を説明するために様々なメカニズムを与えることができるが、出願人は、理論によって拘束されることを望まない。これら理論は、本発明をよりよく理解するために示唆されるが、請求の範囲の有効な範囲を制限するためのものではない。

エンボディメント1の第1の側面(I, A)においては、出願人は、ビルベ-

ートが細胞内に移送されて、そこでそれが酸化防止剤として作用して細胞中の酸素ラジカルを中和することができると考えている。ビルベートは、細胞内でのクエン酸回路において用いられて細胞活力を増加させるエネルギーを与えることもできるし、また重要な生体分子の合成における前駆物質として用いられて細胞増殖

を促進することもできる。加えて、ピルベートは、多機能オキシダーゼ系で用いられて細胞毒性を反転させることができる。酸化防止剤、特に、脂溶性酸化防止剤は、細胞膜中に吸収されて酸素ラジカルを中和し、それによって膜を保護することができる。本発明の飽和及び不飽和脂肪酸は、哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸であると共に負傷した細胞の修復及び新しい細胞の増殖に容易に利用可能である。酸素ラジカルによって負傷した細胞は、細胞膜を修復するために不飽和脂肪酸を生成する必要がある。しかしながら、細胞による不飽和脂肪酸の生成には酸素を必要とする。かくして、負傷した細胞は、不飽和脂肪酸を生成するのに高濃度の酸素を必要とし、同時に、酸化的負傷を減少させるために細胞内の酸素濃度を減少させる必要がある。修復に必要な不飽和脂肪酸を細胞に提供することにより、不飽和脂肪酸についての細胞の要求は低減するので高酸素濃度についての要求もまた低減する。

細胞内のピルベートと細胞膜中の酸化防止剤の組合わせは、予想外に相乗的に機能して、どちらかの種類の成分単独の使用によって得られるよりも低い濃度まで、細胞中の過酸化水素生成を減少させる。治療用創傷治癒組成物中の飽和及び不飽和脂肪酸の混合物の存在は、反応性酸素生成を阻害するピルベート及び酸化防止剤の能力を有意に増大させる。細胞膜を安定化させることにより、不飽和脂肪酸は、膜機能を向上させそして細胞中へのピルベート移送も促進させる。したがって、エンボディメント1の第1の側面(I.A)の治療用創傷治癒組成物中の三成分は、一緒に予想外に相乗的に機能して、哺乳動物細胞の負傷を防止及び低減させ、そして負傷した哺乳動物細胞の回復速度を増加させる。

エンボディメント1の第2の側面(I.B)において、ラクテートは酸化防止剤の代わりに用いられる。酸化防止剤は、酸素ラジカルが既に生成された後に該ラジカルと反応し、そしてそれを中和する。一方、ラクテートは、細胞フィードバックメカニズムの成分であるのでレスピラトリバースト過程を阻害して活性

酸素種の生成を抑制する。活性酸素種を中和するピルベートとレスピラトリバースト過程を抑制するラクテートの組合わせは、相乗的に機能して、どちらかの種類の成分単独の使用によって得られるよりも低い濃度まで、細胞中の過酸化水

素生成を減少させる。治療用創傷治癒組成物中の飽和及び不飽和脂肪酸の混合物の存在は、反応性酸素生成を阻害するピルベート及びラクテートの能力を有意に増大させる。したがって、エンボディメント1の第2の側面(I.B)の治療用創傷治癒組成物中のこれら三成分は、一緒に相乗的に機能して、哺乳動物細胞を保護及び回復させる。

エンボディメント1の第3の側面(I.C)において、この態様における治療用創傷治癒組成物中の飽和及び不飽和脂肪酸の混合物の存在は、反応性酸素生成を阻害する酸化防止剤の能力を有意に増大させる。活性酸素種を中和する酸化防止剤と細胞膜を再建し且つ酸素についての細胞の要求を低減させる脂肪酸の組合わせは、相乗的に機能して、どちらかの種類の成分単独の使用によって得られるよりも低い濃度まで、細胞中の過酸化水素生成を減少させる。したがって、エンボディメント1の第3の側面(I.C)の治療用創傷治癒組成物中の成分は、一緒に相乗的に機能して、哺乳動物細胞を保護及び回復させる。

エンボディメント1の第4の側面(I.D)において、ラクテートは、レスピラトリバースト過程が表皮ケラチノサイトにおけるよりも単球において顕著であるために用いられる。レスピラトリバースト過程を抑制するラクテートと活性酸素種を中和する酸化防止剤の組合わせは、相乗的に機能して、どちらかの成分単独によって得られるよりも低い濃度まで、細胞中の過酸化水素生成を減少させる。この態様における治療用創傷治癒組成物中の飽和及び不飽和脂肪酸の混合物の存在は、反応性酸素生成を阻害するラクテート及び酸化防止剤の能力を有意に増大させる。したがって、エンボディメント1の第4の側面(I.D)の治療用創傷治癒組成物中のこれら三成分は、一緒に予想外に相乗的に機能して、哺乳動物細胞を保護し且つ回復させる。

したがって、上の態様で示した成分の組合わせは、互いに増強された様式で働いて、哺乳動物細胞の負傷を防止し且つ低減させ、そして負傷した哺乳動物細胞の回復速度を増加させる。上の態様それぞれにおける成分の組合わせの治療的効果は、個々の治療的成分の単独の添加によって予想されるよりも極めて大きい。

したがって、哺乳動物細胞を処置するための出願人の治療用創傷治癒組成物は、

過酸化水素生成濃度の細胞内レベルを低下させ、細胞毒物質に対する細胞耐性を増加させ、細胞増殖速度を増加させ、そして細胞活力を増加させる能力を有する。

B. エンボディメント1の治療用創傷

治療組成物(I.A~D)の製造法

本発明は、エンボディメント1の治療用創傷治療組成物(I.A~D)を製造する方法に及ぶ。概して、治療用創傷治療組成物は、該組成物の成分の混和物を形成することによって製造される。エンボディメント1の第1の側面(I.A)においては、治療用創傷治療組成物は、(a)ピルビン酸、薬学的に許容できるピルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるピルベート、(b)酸化防止剤、及び(c)飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物の混和物を形成することによって製造される。エンボディメント1の第2の側面(I.B)においては、治療用創傷治療組成物は、(a)ピルビン酸、薬学的に許容できるピルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるピルベート、(b)乳酸、薬学的に許容できる乳酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるラクテート、及び(c)飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物の混和物を形成することによって製造される。エンボディメント1の第3の側面(I.C)においては、治療用創傷治療組成物は、(a)酸化防止剤、及び(b)飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物の混和物を形成することによって製造される。エンボディメント1の第4の側面(I.D)においては、治療用創傷治療組成物は、(a)乳酸、薬学的に許容できる乳酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるラクテート、(b)酸化防止剤、及び(c)飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物の混和物を形成することによって製造される。

幾つかの用途においては、混和物は水などの溶媒中で形成することができ、そ

して必要ならば界面活性剤を加えてよい。必要ならば、溶媒のpHを約3.5～約8.0、好ましくは約4.5～約7.5、そしてより好ましくは約6.0～約7.4の範囲に調整する。次に、その混和物を滅菌ろ過する。他の成分も、当業者に周知のように、所望の組成物の性状によって示されるように治療用創傷治癒組成物中に組み入れることができる。最終的な治療用創傷治癒組成物は、薬学分野で広く知られている方法を用いて容易に製造される。

好ましい態様においては、本発明は、哺乳動物細胞の負傷を防止し且つ低減させそして負傷した哺乳動物細胞の回復速度を高めるための治療用創傷治癒組成物(I.A)を製造する方法であって、以下の成分：

(a) ピルビン酸、薬学的に許容できるピルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるピルベート；

(b) 酸化防止剤；及び

(c) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が負傷した哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物を混和する工程を含む方法に向けられている。

C. エンボディメント1の治療用創傷

治癒組成物(I.A～D)を用いる方法

本発明は、エンボディメント1(I)の治療用創傷治癒組成物を *in vivo* 及び *in vitro* で用いる方法に及ぶ。概して、治療用創傷治癒組成物は、該治療用組成物を哺乳動物細胞に接触させることによって用いられる。

エンボディメント1の第1の側面(I.A)において、本発明は、哺乳動物細胞の負傷を防止し且つ低減させ、そして負傷した哺乳動物細胞の回復速度を高める方法であって、(A) (a) ピルビン酸、薬学的に許容できるピルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるピルベート；(b) 酸化防止剤；及び(c) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が負傷した哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物を含む治療用創傷治癒組成物を提供し、そして(B) 該治療用創傷治癒組成物を哺乳動物細胞に接触させる工程を含む方法に向けられている。

エンボディメント1の第2の側面(I.B)において、本発明は、哺乳動物細

胞の負傷を防止し且つ低減させ、そして負傷した哺乳動物細胞の回復速度を高める方法であって、(A)(a)ピルビン酸、薬学的に許容できるピルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるビルベート；(b)乳酸、薬学的に許容できる乳酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるラクテート、及び(c)飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が負傷した哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物を含む治療用創傷治癒組成物を提供し、そして(B)該治療用創傷治癒組成物を哺乳動物細胞に接触させる工程を含む方法に向けられている。

エンボディメント1の第3の側面(I.C)において、本発明は、哺乳動物細胞の負傷を防止し且つ低減させ、そして負傷した哺乳動物細胞の回復速度を増加させる方法であって、(A)(a)酸化防止剤、及び(b)飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が負傷した哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物を含む治療用創傷治癒組成物を提供し、そして(B)該治療用創傷治癒組成物を哺乳動物細胞に接触させる工程を含む方法に向けられている。

エンボディメント1の第4の側面(I.D)において、本発明は、哺乳動物細胞の負傷を防止し且つ低減させ、そして負傷した哺乳動物細胞の回復速度を増加させる方法であって、(A)(a)乳酸、薬学的に許容できる乳酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるラクテート、(b)酸化防止剤、及び(c)飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が負傷した哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物を含む治療用創傷治癒組成物を提供し、そして(B)該治療用創傷治癒組成物を哺乳動物細胞に接触させる工程を含む方法に向けられている。

好ましい態様においては、本発明は、哺乳動物における創傷を治癒させる方法であって、

(A)(a)ピルビン酸、薬学的に許容できるピルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるビルベート；

(b)酸化防止剤；及び

(c)飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が負傷した哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物

を含む治療用創傷治癒組成物（I.A）を提供し；そして

（B）該治療用創傷治癒組成物を該創傷に接触させる工程を含む方法に向けられている。

本発明のエンボディメント1の創傷治癒組成物（I.A～D）を用いて治癒させる創傷の種類は、切り傷、つまり切断用具によって皮膚が破られる創傷、及び裂傷、つまり鋭利ではないか又は鈍い用具によって皮膚が破られる創傷などの表皮損傷を引き起こす傷害に起因するものである。この治療用組成物は、角質増殖症、光老化、熱傷、皮膚移植からのドナー部位創傷、潰瘍（皮膚、褥瘡、静脈うっ血及び糖尿病性潰瘍）、乾癬、皮膚発疹、及び日焼け光反応性過程などの種々の皮膚疾患を治療するのに用いることができる。口内潰瘍及び熱傷などの負傷した口腔組織を保護してその治癒を促進するために、この局所用治療用組成物を口内洗浄剤又はスプレーの形で口腔に用いてもよい。この局所用治療用組成物は、更に、角膜潰瘍、半径方向角膜切開術、角膜移植、エピケラトファキア（epikeratophakia）及び他の外科的に生じた眼の創傷に起因するものなどの創傷を処置するための眼科用製剤に用いることができる。加えて、この局所用治療用組成物は、肛門そう痒症、直腸炎、肛門裂傷及び痔などの症状を処置するための肛門直腸用クリーム剤及び坐剤に用いることができる。好ましい態様においては、この治療用組成物は、切り傷及び裂傷などの創傷を処置するのに用いられる。

本発明のエンボディメント1の創傷治癒組成物（I.A～D）は、局所用製品、摂取可能な製品及び組織培養培地中で用いて、哺乳動物細胞を保護し且つ負傷した哺乳動物細胞の回復速度を増加させることができる。例えば、この治療用創傷治癒組成物は、角質増殖症、光老化、及び日焼け光反応性過程などの種々の皮膚障害の処置におけるように、皮膚組織を保護し且つその回復速度を高めるための局所用スキンケア製品に用いることができる。皮膚の負傷は様々な理由で生じうる。負傷は、しばしば、頻繁に手を洗う個体、緊張に満ちた環境条件に曝されている（日光又は化学薬品に対する過暴露）個体、又は初老の個体若しくは潜在的疾患のある個体に生じる。本発明の創傷治癒組成物をローション剤に添加すると、紫外線、化学薬品及び苛酷な乾燥の有害な作用から皮膚を保護すると考えられる皮膚に対する酸化防止源を提供する。本創傷治癒組成物は、次の適応症、つ

まり、

(a) 給湿及び保護；(b) 乾燥によって砕けた皮膚の治癒；(c) おむつかぶれなどの炎症を起こした皮膚の処置；(d) 他の疾患（静脈性皮膚炎）による重症の乾燥皮膚の治癒；(e) 乾癬及び他の高増殖性疾患の処置；(f) 紫外線損傷からの皮膚の保護（酸化防止剤皮膚補充）；(g) 脂漏性症状の処置；及び(h) アフターシェーブローションでのシェービングによる創傷の処置に用いることができる。

本局所用治療用創傷治癒組成物は、口内潰瘍及び熱傷などの負傷した口内組織を保護し且つその治癒を促進するのに、口内洗浄剤又はスプレーの形で口内に用いることができる。この局所用治療用創傷治癒組成物は、更に、コンタクトレンズに用いられる過酸化水素を中和するアイケア製品などの眼科用製剤に用いることができる。加えて、この局所用治療用創傷治癒組成物は、肛門そう痒症、直腸炎、肛門裂傷、及び痔などの症状を処置するための肛門直腸用クリーム剤及び坐剤に用いることができる。まず、白血球が創傷部位に入ると、その細胞は酸素ラジカルを放出し、創傷部位で酸化防止剤を消耗させ、かくして治癒過程が損なわれる。創傷治癒製剤中に本発明の創傷治癒組成物を入れると、該部位に利用できる酸化防止剤及び膜修復に必要な脂肪酸源を与えることにより、治癒を促進させるであろう。本創傷治癒組成物は、次の適応症、つまり、(a) 切り傷及びすり傷の治癒；(b) 熱傷（瘢痕及び痂皮の少ない熱傷を治癒する）；(c) 褥瘡性潰瘍；(d) 褥瘡、圧迫性潰瘍；(e) 裂溝、痔；(f) 免疫刺激剤との併用（欠乏症の人々を治癒するに際して治癒を刺激する）；(g) 外科手術後創傷；(h) 包帯；(i) 糖尿病性潰瘍；(j) 静脈性潰瘍形成；及び(k) 創傷クリンジング剤との併用に用いることができる。

本治療用創傷治癒組成物は、摂取可能な製品で用いて、びらん、胃潰瘍及び胃粘膜での出血を保護してそれらの回復速度を増加させることもできる。他の摂取可能な治療用製品には、発作薬；自己免疫疾患薬；関節炎薬；潰瘍薬剤；癌の薬剤（細胞障害剤）；局所心室機能を向上させ且つ正常な心拍数及び心圧機能を回復させる心臓薬；負傷した組織を修復する肺の薬剤；アルコール起原の脂質生成

を抑制し且つ肝脂肪症を予防する肝臓薬；尿結石（腎臓結石）を抑制する腎臓薬；重金属中毒、シアナイド中毒、硫化ナトリウム中毒、他の種類の中毒に拮抗する

解毒薬が含まれ；そして、それらは、組織を負傷させる酸素ラジカルの生成を減少させ且つ中和して、負傷した哺乳動物細胞を保護し且つその回復速度を更に高める。本治療用創傷治癒組成物は、摂取可能な製品で用いて、肝炎、胃炎、大腸炎、食道炎、関節炎及び脾炎などの炎症性疾患を処置することができる。

本発明の治療用創傷治癒組成物は、組織培地及び臓器移植培地中で用いて、哺乳動物細胞の負傷を防止し且つ低減させ、そして負傷した哺乳動物細胞の回復速度を増加させることができる。組織培養物及び移植臓器は、負傷した細胞によって培地中に生じる反応性酸素種に遭遇する。虚血後の再灌流負傷のために輸送及び移植中の酸化的損傷を受け易い臓器は、角膜、肝臓、心臓及び腎臓である。本治療用創傷治癒組成物は、このような移植臓器の再灌流負傷をなくするのに有用でありうる。

具体的態様において、本発明は、哺乳動物細胞を培地中で保存する方法であって：

(A) (I. A) (a) ビルビン酸、薬学的に許容できるビルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるビルベート；

(b) 酸化防止剤；及び

(c) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物；

(I. B) (a) ビルビン酸、薬学的に許容できるビルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるビルベート；

(b) 乳酸、薬学的に許容できる乳酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるラクテート；及び

(c) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物；

(I. C) (a) 酸化防止剤；及び

(b) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が

細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物；

(I.D)(a) 乳酸、薬学的に許容できる乳酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるラクテート；

(b) 酸化防止剤；及び

(c) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物；及び

(b) 酸化防止剤；及び

(c) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が負傷した哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物；
からなる群から選択される治療用創傷治癒組成物を提供し；

(B) 培地中に哺乳動物細胞を提供し；そして

(C) 工程(A)からの治療用創傷治癒組成物を工程(B)からの培地中の哺乳動物細胞に接触させる工程を含む方法に向けられている。

D. エンボディメント1の治療用創傷

治癒組成物(I.A～D)の製剤

製造したら、本発明のエンボディメント1の治療用創傷治癒組成物(I.A～D)は、将来の使用のために貯蔵しても薬学的に許容できるキャリアと有効量で配合して、多種多様な医薬組成物を製造することができる。薬学的に許容できるキャリアの例は、製薬器具、局所用ビヒクル(非口内及び口内用)及び摂取可能なビヒクルである。

製薬器具の例は、縫合糸、ステープル、ガーゼ、包帯、熱傷包帯剤、人工皮膚、リポソーム又はミセル製剤、マイクロカプセル、ガーゼ包帯剤を浸漬するための水性ビヒクル等、及びそれらの混合物である。非口内局所用組成物は、クリーム剤、ゲル製剤、泡剤、軟膏剤及びスプレー剤、膏薬、及び薄膜剤などの非口内局所用ビヒクルを用い、それらは皮膚又は体腔に適用するためのものであり、口内に使用するためのものではない。口内局所用組成物は、口内洗浄剤、リンス剤、口内スプレー剤、懸濁剤、及び歯科用ゲル剤などの口内用ビヒクルを用い、それらは口内に使用するためのものであるが、摂取されるためのものではない。摂

取可能な組成物は、口中錠、錠剤、タフィー、メガー、懸濁剤、咀嚼キャンディ、及びチューインガムなどの硬質及び軟質糖菓を含む、糖菓用増量剤などの摂取可能な又は部分的に摂取可能なビヒクルを用いる。

本発明の一つの形態において、治療用創傷治癒組成物は、縫合糸、ステープル、

ガーゼ、包帯、熱傷包帯剤、人工皮膚、リポソーム又はミセル製剤、マイクロカプセル、ガーゼ包帯剤を浸漬するための水性ビヒクル等、及びそれらの混合物の形であってもよい製薬器具中に組み入れられる。場合により、緩衝剤、保存剤、張性調整剤、酸化防止剤、粘度調整用又は増量剤として用いるためのポリマー、及び賦形剤等のような種々の伝統的な成分を有効量で医薬組成物中に含むことができる。このような伝統的成分の具体的な代表例には、酢酸及びホウ酸緩衝剤；チメロサル；ソルビン酸、メチル及びプロピルパラベン、及びクロロブタノール保存剤；張性を調整するための塩化ナトリウム及び糖；及びマンニトール、ラクトース及びスクロースなどの賦形剤が含まれる。薬学分野の当業者に知られている他の慣用的な医薬用添加物も、この医薬組成物中に用いることができる。

本発明によれば、本発明の治療用創傷治癒組成物の治療的有效量を製薬器具において用いることができる。その量は、過度の実験を必要とすることなく、当業者によって容易に決定される。用いられる治療用創傷治癒組成物の正確な量は、治療用創傷治癒組成物の種類及び濃度、及び用いられる製薬器具の種類などの因子によって決められる。したがって、治療用創傷治癒組成物の量は、最終製品で望まれる結果を得るために変更することができ、このような変更は、過度の実験を必要とすることなく、当業者の能力の範囲内である。好ましい態様において、この医薬組成物は、その医薬組成物の約0.1重量%～約5重量%の量の治療用創傷治癒組成物を含むであろう。より好ましい態様においては、この医薬組成物は、その医薬組成物の約0.1重量%～約3重量%の量の治療用創傷治癒組成物を含むであろう。最も好ましい態様においては、この医薬組成物は、その医薬組成物の約0.1重量%～約1重量%の量の治療用創傷治癒組成物を含むであろう。

本発明は、医薬組成物を製造する方法に及ぶ。概して、医薬組成物は、治療の有効量の治療用創傷治癒組成物を製薬器具及び最終的に望まれる医薬組成物の他の成分と接触させることによって製造される。本治療用創傷治癒組成物は、溶媒中のものであっても製薬器具上に吸収されていてもよい。

通常、他の成分が、当業者によって周知であるように、所望の組成物の性状によって必要とされるようにその組成物中に入れられるであろう。最終的な医薬組成物は、薬学分野において広く知られている方法を用いて容易に製造される。

本発明のもう一つの形態においては、治療用創傷治癒組成物は、クリーム、ゲル、泡、軟膏及びスプレー等の形であってよい非口内局所用ビヒクル中に組み入れられる。薬学分野で知られている典型的な無毒性非口内局所用ビヒクルを本発明において用いることができる。好ましい非口内局所用ビヒクルは、水、及びエチルアルコール、イソプロピルアルコール、プロピレングリコール、グリセリン等のような薬学的に許容できる水混和性有機溶媒、並びにこれら溶媒の混合物である。水-アルコール混合物が特に好ましく、概して、それぞれ約1:1～約20:1、好ましくは約3:1～約20:1、そして最も好ましくは約3:1～約10:1の重量比で用いられる。

非口内局所用治療用創傷治癒組成物は、更に、それらの製品中で用いられる慣用的な添加剤を含むこともできる。慣用的な添加剤には、湿潤剤、皮膚軟化薬、滑沢剤、安定化剤、染料、及び香料が含まれる。但し、それら添加剤は治療用創傷治癒組成物の治療的性質の妨げにならないことを条件とする。

非口内局所用治療用創傷治癒組成物において有用な適する湿潤剤には、グリセリン、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、ソルビタン、フルクトース等及びそれらの混合物が含まれる。湿潤剤を用いた場合、それは局所用治療用創傷治癒組成物の約10重量%～約20重量%の量で存在しうる。

非口内局所用治療用創傷治癒組成物において有用な着色剤は、所望の色を出すのに有効な量で用いられる。これら着色剤には、非口内局所用治療用創傷治癒組成物の最大約6重量%までの量で取り込まれうる顔料が含まれる。好ましい顔料である二酸化チタンは、非口内局所用治療用創傷治癒組成物の最大約2重量%ま

で、好ましくは約1重量%未満の量で取り込まれうる。着色剤には、食物、薬物及び化粧品用途に適した天然食用色素及び染料も含まれうる。これら着色剤は、F.D.& C.染料及びレーキとして知られている。前述の用途に許容できる材料は、水溶性であるのが好ましい。典型的な非制限例には、F.D.& C.ブルー2号として知られているインジゴイド染料が含まれ、それは5,5-インジゴスズジスルホン酸の二ナトリウム塩である。同様に、F.D.& C.グリーン1号として知られる染料は、トリフェニルメタン染料が含まれ、それは4-[4-(N-エチル-p-スルホニウムベンジルアミノ)ジフェニルメチレン]-[1-(N-エチル-N-p-スルホニウムベンジル)- δ -2,5-シクロヘキサジエンイミン]の一ナトリウム塩である。全てのF.D.& C.着色剤の完全な詳述及びそれらの対応する化学構造は、Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, 第3版, 5巻, 857-884頁で見ることができ、その内容は参照により本明細書中に組み入れられるものとする。

この発明によれば、治療的有効量の本発明の治療用創傷治癒組成物を非口内局所用ビヒクルと混和して、局所用治療用創傷治癒組成物を形成させることができる。これら量は、過度の実験を必要とすることなく、当業者によって容易に決定される。好ましい態様においては、非口内局所用治療用創傷治癒組成物は、非口内局所用治療用創傷治癒組成物の約0.1重量%～約10重量%の量の治療用創傷治癒組成物及び組成物の全量を100重量%にするのに十分な量の非口内局所用ビヒクルを含むであろう。より好ましい態様においては、本非口内局所用治療用創傷治癒組成物は、非口内局所用治療用創傷治癒組成物の約0.1重量%～約5重量%の量の治療用創傷治癒組成物を含み、そして最も好ましい態様においては、本非口内局所用治療用創傷治癒組成物は、約0.1重量%～約2重量%の量の治療用創傷治癒組成物、並びに組成物の全量を100重量%にするのに十分な量の非口内局所用ビヒクルを含むであろう。

本発明は、非口内局所用治療用創傷治癒組成物を製造する方法に及ぶ。このような方法において、非口内局所用治療用創傷治癒組成物は、治療的有効量の本発明の治療用創傷治癒組成物と非口内局所用ビヒクルを混和することによって製造

される。最終組成物は、薬学分野の当業者によって一般的に知られている標準的な方法及び装置を用いて容易に製造される。本発明によって有用な装置は、薬学分野において周知の混合装置を含み、したがって、具体的な装置の選択は当業者に明らかであろう。

本発明のもう一つの形態においては、治療用創傷治癒組成物は、口内洗浄剤、リンス剤、口内スプレー剤、懸濁剤、歯科用ゲル剤等の形でありうる口内局所用ビヒクル中に組み入れられる。薬学分野において知られている典型的な無毒性口内ビヒクルを本発明において用いることができる。好ましい口内用ビヒクルは、水、エタノール、及び水-エタノール混合液である。水-エタノール混合液は、

概して、それぞれ約1:1～約20:1、好ましくは約3:1～約20:1、そして最も好ましくは約3:1～約10:1の重量比で用いられる。口内用ビヒクルのpH値は、概して、約4～約7、そして好ましくは約5～約6.5である。

pH値が約4未満の口内局所用ビヒクルは、概して、口腔に対して刺激性であり、pH値が約7より大きな口内用ビヒクルは、概して、不快な口内感触を生じる。

口内局所用治療用創傷治癒組成物は、それらの製品中で通常用いられる慣用的な添加剤を含むこともできる。慣用的な添加剤には、フッ素付与化合物、甘味剤、風味剤、着色剤、湿潤剤、緩衝剤、及び乳化剤が含まれる。但し、それら添加剤が治療用創傷治癒組成物の治療的性質の妨げにならないことを条件とする。

非口内局所用治療用創傷治癒組成物において有用であると上に示した着色剤及び湿潤剤、及び用いられるこれら添加剤の量を、口内局所用治療用創傷治癒組成物において用いることができる。

フッ素付与化合物は、完全に又は僅かに水溶性であってよく、水中にフッ素イオン又はフッ素含有イオンを放出する能力及び組成物中の他の成分とそれらが反応しないことを特徴とする。典型的なフッ素付与化合物は、水溶性アルカリ金属塩、アルカリ土類金属塩及び重金属塩などの無機フッ化物塩、例えば、フッ化ナトリウム、フッ化カリウム、フッ化アンモニウム、フッ化第一銅、フッ化亜鉛、フッ化第二スズ、フッ化第一スズ、フッ化バリウム、フルオロケイ酸ナトリウム

、フルオロケイ酸アンモニウム、フルオロジルコニウム酸ナトリウム、モノフルオロリン酸ナトリウム、モノー及びジフルオロリン酸アルミニウム、及びフッ素化ピロリン酸カルシウムナトリウムである。フッ化ナトリウム及びフッ化第一スズ、モノフルオロリン酸ナトリウム、及びそれらの混合物などのアルカリ金属フッ化物、フッ化スズ及びモノフルオロリン酸塩が好ましい。

本口内局所用治療用創傷治癒組成物中に存在するフッ素付与化合物の量は、用いられるフッ素付与化合物の種類、フッ素化合物の溶解性、及び最終口内治療用創傷治癒組成物の性状に依る。用いられるフッ素付与化合物の量は、無毒な量でなければならない、概して、フッ素付与化合物が用いられる場合、それは口内局所用治療用創傷治癒組成物の最大約1重量%まで、好ましくは約0.001重量%～約0.1重量%、そして最も好ましくは約0.001重量%～約0.05重量%の量で存在するであろう。

甘味剤を用いる場合、天然及び人工甘味剤両方を含む当該技術分野において周知の甘味剤を用いることができる。用いられる甘味剤は、水溶性甘味剤、水溶性人工甘味剤、天然に存在する水溶性甘味剤から誘導された水溶性甘味剤、ジペプチド基剤甘味剤及びタンパク質基剤甘味剤、及びそれらの混合物を含む広範囲の材料から選択されうる。特定の甘味剤に限定されることなく、代表的なカテゴリー及び例には、

(a) キシロース、リボース、グルコース(デキストロース)、マンノース、ガラクトース、フルクトース(レブロース)、スクロース(砂糖)、マルトース、転化糖(スクロースから誘導されたフルクトースとグルコースの混合物)、部分加水分解デンプン、コーンシロップ固形物、ジヒドロカルコン、モネリン、ステビオシド、及びグリチルリチン、及びそれらの混合物のような単糖、二糖及び多糖などの水溶性甘味剤；

(b) 可溶性サッカリン塩、すなわち、サッカリンナトリウム塩又はサッカリンカルシウム塩、シクラミン酸塩、3,4-ジヒドロ-6-メチル-1,2,3-オキサチアジン-4-オン-2,2-ジオキシドのナトリウム塩、アンモニウム塩又はカルシウム塩、3,4-ジヒドロ-6-メチル-1,2,3-オキサチアジ

ン-4-オン-2,2-ジオキシドのカリウム塩 (Acesulfame-K)、フリーの酸の型のサッカリン等のような水溶性人工甘味剤；

(c) L-アスパルチル-L-フェニルアラニンメチルエステル (Aspartame) 及び米国特許第3,492,131号に記載された物質、L- α -アスパルチル-N-(2,2,4,4-テトラメチル-3-チエタニル)-D-アラニンアミド水和物 (Alitame)、L-アスパルチル-L-フェニルグリセリン及びL-アスパルチル-L-2,5-ジヒドロフェニルグリシンのメチルエステル、L-アスパルチル-2,5-ジヒドロ-L-フェニルアラニン；L-アスパルチル-L-(1-シクロヘキセン)アラニン等のようなL-アスパラギン酸誘導甘味剤などのジペプチド基剤甘味剤；

(d) 普通の砂糖 (スクロース) の塩素化誘導体のような天然に存在する水溶性甘味剤から誘導された水溶性甘味剤、例えば、Sucralose の製品名で知られて

いるクロロデオキシスクロース又はクロロデオキシガラクトスクロースの誘導体などのクロロデオキシ糖誘導体；なお、クロロデオキシスクロース及びクロロデオキシガラクトスクロース誘導体の例には、1-クロロ-1'-デオキシスクロース；4-クロロ-4-デオキシ- α -D-ガラクトピラノシル- α -D-フルクトフラノシド、又は4-クロロ-4-デオキシガラクトスクロース；4-クロロ-4-デオキシ- α -D-ガラクトピラノシル-1-クロロ-1-デオキシ- β -D-フルクトフラノシド、又は4,1'-ジクロロ-4,1'-ジデオキシガラクトスクロース；1',6'-ジクロロ-1',6'-ジデオキシスクロース；4-クロロ-4-デオキシ- α -D-ガラクトピラノシル-1,6-ジクロロ-1,6-ジデオキシ- β -D-フルクトフラノシド、又は4,1',6'-トリクロロ-4,1',6'-トリデオキシガラクトスクロース；4,6-ジクロロ-4,6-ジデオキシ- α -D-ガラクトピラノシル-6-クロロ-6-デオキシ- β -D-フルクトフラノシド、又は4,6,6'-トリクロロ-4,6,6'-トリデオキシガラクトスクロース；6,1',6'-トリクロロ-6,1',6'-トリデオキシスクロース；4,6-ジクロロ-4,6-ジデオキシ- α -D-ガラクトピラノシル-1,6-ジクロロ-1,6-ジデオキシ- β -D-フルクトフラノシド、又は4,6,1'

, 6'-テトラクロロ-4,6,1', 6'-テトラデオキシガラクトスクロース; 及び 4,6,1', 6'-テトラクロロ-4,6,1', 6'-テトラデオキシスクロースが含まれるが、これらに限定されない; 及び

(e) thaumaococcus danielli (Thaumatococcus danianus I 及び II) などのタンパク質基剤甘味剤が含まれる。

一般的に、有効量の甘味剤を用いて、個々の口内局所用治療用創傷治癒組成物において望まれる甘味のレベルを提供する。この量は、選択される甘味剤及び望まれる最終口内治療用製品によって変動する。通常存在する甘味剤の量は、用いられる甘味剤に依存して、口内局所用治療用創傷治癒組成物の約 0.0025 重量%~約 90 重量%で存在する。甘味剤の各タイプについての量の正確な範囲は当該技術分野において公知であり、本発明の主題ではない。

用いることができる風味剤 (flavoring agents, flavors, flavorants) としては、天然及び人工の風味剤のような当業者に公知の風味剤が含まれる。適する

風味剤には、ペパーミントのようなミント、オレンジ及びレモンのような柑橘系風味剤、人工バニラ、シナモン、種々の果実風味剤、それら単独及びそれらの混合したものなどが含まれる。

口内局所用治療用創傷治癒組成物において用いられる風味剤の量は、通常は、最終的口内治療用創傷治癒組成物のタイプ、用いられるそれぞれの風味、及び望まれる風味の強さのような要因によって決定される嗜好の問題である。したがって、風味剤の量は、最終製品において望まれる結果を得るために変化させることができ、またそのような変化は、過度の実験を必要とせずに、当業者が容易に行える。風味剤を用いるときは、一般的に、口内治療用創傷治癒組成物の重量の例えば約 0.05 重量%~約 6 重量%の量で用いられる。

非口内局所用治療用創傷組成物において有用な適する緩衝溶液には、非口内局所用治療用創傷治癒組成物の約 1 重量%まで、好ましくは約 0.05 重量%~約 0.5 重量%の量のクエン酸-クエン酸ナトリウム溶液、リン酸-リン酸ナトリウム溶液、及び酢酸-酢酸ナトリウム溶液が含まれる。

本発明によれば、治療的有效量の本発明の治療用創傷治癒組成物を口内局所用

ビヒクルと混和して、局所用治療用創傷治癒組成物をつくることができる。これら量は、過度の実験を必要とせずに、当業者によって容易に決定される。好ましい態様では、口内局所用治療用創傷治癒組成物は、治療用創傷治癒組成物を口内局所用治療用創傷治癒組成物の約0.1重量%～約10重量%の量で含み、口内局所用ビヒクルを組成物の総量を100%とするのに十分な量で含む。より好ましい態様では、口内局所用治療用創傷治癒組成物は、治療用創傷治癒組成物を口内局所用治療用創傷治癒組成物の約0.1重量%～約5重量%の量で含み、最も好ましい態様では、口内局所用治療用創傷治癒組成物は、治療用創傷治癒組成物を約0.1重量%～約2重量%の量で含み、口内局所用ビヒクルを組成物の総量を100%とするのに十分な量で含む。

本発明は、口内局所用治療用創傷治癒組成物を調製する方法に及ぶ。そのような方法では、口内局所用治療用創傷治癒組成物は、治療的有効量の本発明の治療用創傷治癒組成物と口内局所用ビヒクルとを混和することによって調製される。最終組成物は、薬学分野の当業者には広く知られた標準的な方法及び装置を用いて容易に調製される。本発明による有用な装置は、薬学分野で周知の混合装置を含むので、特定の装置の選択は当業者には明らかであろう。

好ましい態様では、口内局所用治療用創傷治癒組成物は、まず、着色剤、風味剤、及び同じような添加剤を水中に溶かすことによって製造される。次に、治療用創傷治癒組成物をこの水溶液と混和する。次いで、最終溶液容量に達するまで、この溶液に十分な水又はエタノール、あるいは水とエタノールとの混合物を混合しながら加える。より好ましい態様では、治療用創傷治癒組成物を最終成分としてこの溶液に加える。最終の口内局所用治療用創傷治癒組成物は、薬学分野において広く知られた方法を用いて容易に調製される。

口内治療用創傷治癒組成物は、歯科用ゲル剤の形態であっても良い。本明細書で用いる場合“ゲル”という用語は、かなりの量の水を含む固体又は半固体のコロイドを意味している。ゲル中のコロイド粒子は、その内側に含まれている水を固定する合着網の中で一緒に連結されている。

本発明の歯科用ゲル組成物は、口内洗浄剤、リンス剤、口内用スプレー剤、及

び懸濁剤のような、口内局所用治療用創傷治癒組成物について上記した慣用的な添加剤を含むことができ、更に、治療用創傷治癒組成物の治療的特性を妨げないという条件下で、歯磨き剤、知覚鈍麻剤などの追加の添加剤を含むこともできる。

歯科用ゲル組成物においては、口内ビヒクルは、一般的には、水を典型的には歯科用ゲル組成物の約10重量%～約90重量%の量で含む。ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、グリセリン、及びそれらの混合物も、歯科用ゲル組成物の約18重量%～約30重量%の量で、湿潤剤又は結合剤としてこのビヒクル中に存在しても良い。特に好ましい口内ビヒクルは、水とポリエチレングリコールとの混合物又は水とグリセリン及びポリプロピレングリコールとの混合物を含む。

本発明の歯科用ゲルには、天然又は合成のガム又はゼラチンのようなゲル化剤（増粘剤）が含まれる。ヒドロキシエチルセルロース、メチルセルロース、グリセリン、カルボキシポリメチレン、及びゼラチンなど、及びそれらの混合物のようなゲル化剤を用いることができる。好ましいゲル化剤は、ヒドロキシエチルセルロースである。ゲル化剤は、歯科用ゲル組成物の約0.5重量%～約5重量%、

好ましくは約0.5重量%～約2重量%の量で用いることができる。

本発明の歯科用ゲル組成物は、歯磨き剤を含むこともできる。透明なゲルでは、コロイドシリカ及び／又はアルカリ金属アルミノシリケート錯体の歯磨き剤が好ましい。というのは、それら材料は、歯科用ゲル剤で普通に用いられるゲル化系の屈折率に近い屈折率を有するからである。不透明なゲルでは、炭酸カルシウム又はカルシウム二水和物の歯磨き剤を用いることができる。これら歯磨き剤は、歯科用ゲル組成物の約75重量%まで、好ましくは約50重量%までの量で用いることができる。

歯科用ゲルは、クエン酸とクエン酸ナトリウムを組み合わせたもののような知覚鈍麻剤も含むことができる。クエン酸は、歯科用ゲル組成物の約0.1重量%～約3重量%、好ましくは約0.2重量%～約1重量%の量で用いることができ

、クエン酸ナトリウムは、約0.3重量%～約9重量%、好ましくは約0.6重量%～約3重量%の量で用いることができる。

本発明によれば、治療的有効量の本発明の治療用創傷治癒組成物を歯科用ゲル組成物中に混和することができる。これら量は、過度の実験を必要とせずに、当業者によって容易に決定される。好ましい態様では、歯科用ゲル組成物は、治療用創傷治癒組成物を歯科用ゲル組成物の約0.1重量%～約10重量%の量で含み、そして口内局所用ビヒクルを組成物の総量を100%とするのに十分な量で含む。より好ましい態様では、歯科用ゲル組成物は、治療用創傷治癒組成物を歯科用ゲル組成物の約0.1重量%～約5重量%の量で含み、最も好ましい態様では、歯科用ゲル組成物は、治療用創傷治癒組成物を約0.1重量%～約2重量%の量で含み、そして口内局所用ビヒクルを組成物の総量を100%とするのに十分な量で含む。

本発明は、治療用歯科用ゲル組成物を調製する方法に及ぶ。そのような方法では、歯科用ゲル組成物は、治療的有効量の本発明の治療用創傷治癒組成物と口内局所用ビヒクルを混和することによって調製される。最終組成物は、歯科及び薬学分野の当業者により広く知られた方法を用いて容易に調製される。本発明による有用な装置は、薬学分野において周知の混合装置を含むので、特定の装置の選択は当業者には明らかであろう。

好ましい態様では、治療用歯科用ゲル組成物は、まず、湿潤剤又は水、あるいはその双方の混合物中にゲル化剤を分散させ、次にその分散液にフッ素付与化合物、甘味剤などのような水溶性添加剤の水溶液を混和し、次に歯磨き剤を添加し、最後に風味剤及び治療用創傷治癒組成物を混和することによってつくる。次に、最終ゲル混合物をチューブに入れるか又は他の方法でパッケージに入れる。ゲル製品中の液体及び固体を調合して、加圧容器から又は折り畳めるチューブから押出せるクリーム状又はゼリー状塊をつくる。最終治療用創傷治癒組成物は、薬学分野において広く知られている方法を用いて容易に調製される。

本発明のもう一つ別の態様では、治療用創傷治癒組成物を摂取できるビヒクル中に組み入れる。摂取できるビヒクルは、トローチ、錠剤、タフィー、ヌガー、

懸濁剤、咀嚼キャンディ、チューインガムなどの形態の糖菓増量剤であっても良い。薬学的に許容できるキャリヤは、希釈剤、結合剤及び接着剤、滑沢剤、崩壊剤、着色剤、増量剤、風味剤、甘味剤、及び個々の治療用糖菓剤を調製するために必要とされ得る緩衝剤及び吸着剤のような種々雑多な材料を含むがこれらに限定されない多種多様な材料から調製することができる。

糖菓剤製剤の調製は、歴史的に周知であり、ここ数年あまり変わっていない。糖菓剤は“硬質”糖菓剤又は“軟質”糖菓剤のいずれかとして分類されて来た。本発明の治療用創傷治癒組成物は、本発明組成物を慣用的な硬質及び軟質の糖菓剤中に混和することによって、糖菓剤組成物中に組み入れることができる。

本明細書で用いる場合、糖菓剤材料とは、砂糖、コーンシロップ、及び無糖増量剤の場合には、ソルビトール及びマンニトール及びそれらの混合物の如き糖アルコールのような多種多様な材料から選択される増量剤を含有する物質を意味している。糖菓剤材料には、トローチ、錠剤、タフィー、ヌガー、懸濁剤、咀嚼キャンディ、チューインガムなどのような典型的な物質が含まれる。増量剤は、組成物の総量を100%とするのに十分な量で存在する。一般的に、増量剤は、摂取できる治療用創傷治癒組成物の約99.98重量%まで、好ましくは約99.9重量%まで、より好ましくは約99重量%までの量で存在するであろう。

トローチは、口の中でなめて保持することを意図された風味のある医薬品を添加した剤形である。トローチは、平坦形、丸形、八角形及び両凸形の形態で有り

得る。トローチの基剤は、一般的に二つの形態：すなわち、ハードボイルドキャンディトローチ及び圧縮錠剤トローチの形態である。

ハードボイルドキャンディトローチは、慣用的な手段によって加工及び配合することができる。一般的に、ハードボイルドキャンディトローチは、砂糖と、非晶質状態又はガラス状態に保たれた他の炭水化物増量剤との混合物から成る基剤を有する。この非晶質形態又はガラス状態は、一般的に約0.5%～約1.5%の水分を有する砂糖の固体シロップと考えられる。そのような材料は、通常は、最終組成物の約92重量%までのコーンシロップ、約55重量%までの砂糖、及び約0.1重量%～約5重量%の水を含む。シロップ成分は、一般的にフルクト

ースを高含量で含むコーンシロップから調製されるが、他の成分を含んでいてもよい。風味剤、甘味剤、酸味料、着色剤などの更なる成分を加えることもできる。

ボイルドキャンディトローチは、ソルビトール、マニトール、及び水素化コーンシロップなどの非発酵性砂糖から調製することもできる。典型的な水素化コーンシロップは、Roquette Corporation によって製造されている市販製品である Lycasin、及び Lonza, Inc. によって製造されている市販製品である Hystar である。キャンディトローチは、固体シロップ成分の約 95 重量%までのソルビトール、約 9.5 : 0.5 ~ 約 7.5 : 2.5 の割合のソルビトールとマンニトールとの混合物、及び約 55 重量%までの水素化コーンシロップを含むことができる。

ボイルドキャンディトローチは、慣用的な方法によって、火炎調理器 (fire cooker)、真空調理器、及び高速常圧調理器とも呼ばれている掻き取り表面調理器 (scraped-surface cookers) を含む慣用的な方法によって普通に調製することができる。

火炎調理器は、ボイルドキャンディトローチ基剤をつくる伝統的な方法を含む。この方法では、所望量の炭水化物増量剤を増量剤が溶解するまでかまの中で加熱することによって水中に溶かす。次に、追加の増量剤を加えて最終温度が 145℃ ~ 156℃ に達するまで調理を継続してもよい。次に、バッチを冷却してプラスチック様塊に仕上げて、風味剤、着色剤などの添加剤を入れる。

高速常圧調理器は、熱交換器表面を用いて熱交換器表面上でキャンディの薄膜を広げることを含む。キャンディを 165℃ ~ 170℃ で数分間加熱する。次に、

そのキャンディを 100℃ ~ 120℃ まで急速に冷却し、風味剤、着色剤などの添加剤を入れることができるプラスチック様塊に仕上げる。

真空調理器では、炭水化物増量剤を 125℃ ~ 132℃ に煮沸し、真空にして特別な加熱をせずに余分の水を沸騰させて除去する。調理が完了すると、塊は半固体となってプラスチック様コンシステンシーを有するようになる。この時点で、風味剤、着色剤、及び他の添加剤を、日常的な機械混合操作でその塊の中に混

和する。

ボイルドキャンディトローチの慣用的な製造中に風味剤、着色剤及び他の添加剤を均一に混合するために必要とされる最適な混合は、材料の均質な分散を得るのに要する時間によって決定される。標準的には、4～10分の混合時間が許容可能であることを見出した。

ボイルドキャンディトローチを適当に焼いたら、それを加工できる小片へと切断するか又は所望の形状に成形してもよい。所望の最終製品の形状及び大きさに依存して、様々な成形技術を用いることができる。硬質糖菓剤の組成及び調製に関する一般的な考察は、H.A.Lieberman, *Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets*, Volume I (1980), Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y. p.339-469 において見出すことができる。なお、その開示内容は参照により本明細書に組み入れられるものとする。

本発明による有用な装置は、糖菓剤製造分野において周知の調理装置及び混合装置を含むので、特定の装置の選択は当業者には明らかであろう。

対照的に、圧縮錠剤糖菓剤は、粒状材料を含み、加圧下で構造体へと成形される。これら糖菓剤は、一般的に、その組成物の約95重量%までの量で砂糖を含み、結合剤及び滑沢剤のような典型的な錠剤賦形剤、ならびに風味剤、着色剤などを含む。

硬質糖菓剤材料に加えて、本発明のトローチは、ヌガー中に含まれているような軟質糖菓剤材料からつくこともできる。ヌガーのような軟質糖菓剤の調製としては、2つの主成分、即ち(1)コーンシロップ、水素化デンプン水解物などのような高沸点シロップと(2)卵アルブミン、ゼラチン、大豆誘導化合物のような植物性タンパク質、牛乳タンパク質のような無糖牛乳誘導化合物、及びそれ

らの混合物から一般に調製される比較的軽いテクスチャーのフラッペを組み合わせるような慣用的な方法が挙げられる。このフラッペは、一般的に比較的軽くて、例えば、約0.5～約0.7 g/ccの範囲の密度で有り得る。

軟質糖菓剤の高沸点シロップ又は“ボブシロップ(bob syrup)”は、比較的粘性でフラッペ成分より高い密度を有し、しばしば、かなりの量の水素化デンプ

ン水解物のような炭水化物増量剤を含む。慣用的には、最終ヌガー組成物は、攪拌下でフラッペに“ボブシロップ”を添加して基礎ヌガー混合物を作ることによって調製される。その後、風味剤、追加の炭水化物増量剤、着色剤、保存剤、医薬品、それらの混合物などの更なる成分をやはり攪拌下で添加することができる。ヌガー糖菓剤の組成及び調製に関する一般的な考察は、B.W.Minifie, Chocolate, Cocoa and Confectionery :Science and Technology, 2nd edition, AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn. (1980), p.424-425において見出される。なお、その開示内容は参照により本明細書に組み入れられるものとする。

軟質糖菓剤を調製するための手順は公知の手順を含む。一般的に、フラッペ成分を最初に調製し、その後にシロップ成分を少なくとも約65℃で、好ましくは少なくとも約100℃の温度で攪拌下にゆっくりと添加する。これら成分の混合物を混合し続けて均質混合物を形成し、その後、その混合物を80℃未満の温度まで冷却する。その時点で風味剤を加えても良い。その混合物を、取り出し易くなり且つ適当な糖菓剤形状へと成形し易くなるまで更に追加の時間混合する。

摂取できる治療用創傷治癒組成物は、医薬懸濁剤の形態であっても良い。この発明の医薬懸濁剤は、医薬配合分野において長い間に確立された慣用的な方法によって調製することができる。懸濁剤は、当該技術分野で懸濁剤を配合する際に用いられる補助材料を含むことができる。本発明の懸濁剤は、以下の物質を含むことができる：

(a) ブチル化ヒドロキシアニソール(BHA)、ブチル化ヒドロキシトルエン(BHT)、安息香酸、アスコルビン酸、メチルパラベン、プロピルパラベン、トコフェロールなど、及びそれらの混合物のような保存剤。保存剤は、一般的に、該懸濁剤の約1重量%まで、好ましくは約0.05重量%～約0.5重量%の量で存在する；

(b) この懸濁剤の約1重量%まで、好ましくは約0.05重量%～約0.5重量%の量のクエン酸－クエン酸ナトリウム、リン酸－リン酸ナトリウム、及び酢酸－酢酸ナトリウムのような緩衝剤；

(c) この懸濁剤の約20重量%まで、好ましくは約1重量%～約15重量%

の量のセルロース様メチルセルロース、カラゲナン様アルギニン酸及びその誘導体、キサンタンガム、ゼラチン、アラビアゴム、及び微結晶性セルロースのような懸濁剤又は増量剤；

(d) この懸濁剤の約0.2重量%まで、好ましくは約0.01重量%～約0.1重量%の量のジメチルポリシロキサンのような消泡剤；

(e) 天然及び人工の甘味剤の双方を含む当該技術分野において公知の甘味剤のような甘味剤である。キシロース、リボース、グルコース（デキストロース）、マンノース、ガラクトース、フルクトース（レブロース）、スクロース（砂糖）、マルトース、転化糖（スクロースから誘導されたフルクトースとグルコースとの混合物）、部分的に加水分解されたデンプン、コーンシロップ固形物、ジヒドロカルコン、モネリン、ステビオシド、グリチルリチンのような単糖類、二糖類及び多糖類、及びソルビトール、マンニトール、マルチトール（maltitol）、水素化デンプン水解物及びそれらの混合物のような糖アルコールのような甘味剤を、懸濁剤の約60重量%まで、好ましくは約20重量%～約50重量%の量で用いることができる。可溶性サッカリン塩、すなわちナトリウム又はカルシウムのサッカリン塩、シクラミン酸塩、3,4-ジヒドロ-6-メチル-1,2,3-オキサチアジン-4-オン-2,2-ジオキシドのナトリウム塩、アンモニウム塩又はカルシウム塩、3,4-ジヒドロ-6-メチル-1,2,3-オキサチアジン-4-オン-2,2-ジオキシドのカリウム塩（Acesulfame-K）、フリーの酸の形のサッカリンなどのような水溶性人工甘味剤を、懸濁剤の約0.001重量%～約5重量%の量で用いることができる；

(f) 天然及び人工の風味剤のような当該技術分野で周知の風味剤、及びペパーミント、メントールのようなミント、オレンジ及びレモンのような柑橘系風味剤、人工バニラ、シナモン、様々な果実風味剤のような風味剤を、単独及びそれらを混合してこの懸濁剤の約0.5重量%～約5重量%の量で用いることができる；

(g) この懸濁剤の約6重量%までの量で混和することができる顔料のような着色剤。好ましい顔料である二酸化チタンを、この懸濁剤の約2重量%まで、好

ましくは約1重量%未満の量で混和することができる。着色剤には、食品、薬剤及び化粧品の用途に適する天然の食品着色料及び染料も含まれ得る。これら着色剤は、F.D.& C.染料及びレーキとして知られている。前述の使用に許容できる材料は、好ましくは水溶性である。かかる染料は、一般的には懸濁剤の約0.25重量%まで、好ましくは約0.05重量%～約0.2重量%の量で存在する；

(h)メタ重亜硫酸ナトリウム、アスコルビン酸などの脱色剤を懸濁剤中に混和して、劣化による変色を防止することができる。一般的に、脱色剤は、懸濁剤の約0.25重量%まで、好ましくは約0.05重量%～約0.2重量%の量で用いることができる；及び

(i)アルコール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコールなどの可溶化剤を用いて、風味剤を可溶化させることができる。一般的に、可溶化剤は、懸濁剤の約10重量%まで、好ましくは約2重量%～約5重量%の量で用いることができる

本発明の医薬懸濁剤は、次のようにして調製することができる：すなわち、

(A)増量剤を、約40℃～約95℃、好ましくは約40℃～約70℃に加熱した水と混合して、増量剤が水溶性でない場合は分散液をつくり、増量剤が水溶性である場合は溶液をつくる；

(B)甘味剤を水と混合して溶液をつくる；

(C)治療用創傷治癒組成物を増量剤－水混和物と混和して、均質な増量剤－治療用創傷治癒組成物をつくる；

(D)甘味剤溶液を増量剤－治療用創傷治癒組成物と組み合わせ、均質になるまで混合する；そして

(E)着色剤、風味剤、脱色剤、可溶化剤、消泡剤、緩衝剤及び追加の水のような任意の補助材料を、工程(D)の混合物と混和して、懸濁剤をつくる。

この本発明の撰取できる治療用創傷治癒組成物は、咀嚼できる形態であっても良い。咀嚼できる配合物において、許容できる安定性及び質、並びに良い味及び

口あたりを達成するために、幾つかの事項を考慮することが重要である。これら考慮すべき事柄としては、錠剤1錠当たりの活性物質の量、用いられる風味剤、

錠剤の圧縮率の程度、及び該組成物の感覚刺激性が挙げられる。

咀嚼できる治療用キャンディは、軟質糖菓剤をつくるのに用いた手順と同様な手順によって調製される。典型的な手順では、煮沸した砂糖－コーンシロップブレンド物を調製して、それにフラッペ混合物を加える。煮沸した砂糖－コーンシロップブレンド物は、約90：10～約10：90の重量比でブレンドされた砂糖とシロップとから調製することができる。砂糖－コーンシロップブレンド物を約120℃を超える温度まで加熱して水を除去し熔融塊を生成させる。フラッペは、一般的に、ゼラチン、卵アルブミン、カゼインのような牛乳タンパク質、及び大豆タンパク質のような植物性タンパク質などから調製し、それをゼラチン溶液に加え、周囲温度で迅速に混合して、空気混和スポンジ様塊をつくる。次に、フラッペをその熔融キャンディ塊に対して加えて、約65℃～約120℃の温度で均質になるまで混合する。

次に、本発明の摂取できる治療用創傷治癒組成物を、温度を約65℃～950℃まで低下させながら、この均質混合物に加え、次いで、風味剤及び着色剤のような追加成分を加えてもよい。その配合物を更に冷却して、所望の寸法の小片に成形する。

糖菓剤のトローチ形態及び咀嚼できる錠剤形態の一般的な考察は、H.A.Lieberman and L.Lachman, Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets Volume 1, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y. p.289-466に見出すことができる。なお、その開示内容は参照により本明細書に組み入れられるものとする。

本発明によれば、治療的有效量の本発明の治療用創傷治癒組成物を、硬質及び軟質の糖菓剤製品中に混和することができる。これら量は、過度の実験を必要とせずに、当業者によって容易に決定される。好ましい態様では、摂取できる治療用創傷治癒組成物は、治療用創傷治癒組成物を摂取できる治療用創傷治癒組成物の約0.1重量％～約10重量％の量で、並びに摂取できるビヒクル、すなわち薬学的に許容できるキャリヤを組成物の総量を100％にするのに十分な量で含む。より好ましい態様では、摂取できる組成物は、治療用創傷治癒組成物を摂取

できる治療用創傷治癒組成物の約0.1重量％～約5重量％の量で含み、最も好

ましい態様では、摂取できる組成物は、治療用創傷治癒組成物を約0.1重量%～約2重量%の量で含み、そして摂取できるビヒクルを組成物の総量を100%とするのに十分な量で含む。

本発明は、摂取できる治療用創傷治癒組成物をつくる方法に及ぶ。かかる方法では、摂取できる治療用創傷治癒組成物は、治療的有効量の治療用創傷治癒組成物を薬学的に許容できるキャリアと混和することによって調製される。本発明による有用な装置は、糖菓剤分野において周知の混合及び加熱装置を含むので、具体的な装置の選択は、当業者には明らかである。最終の摂取できる治療用創傷治癒組成物は、糖菓剤分野で広く知られている方法を用いて容易に調製される。

本治療用創傷治癒組成物は、チューインガムの中に混和しても良い。本発明のこの形態では、チューインガム組成物は、ガム基剤、増量剤、本発明の治療用創傷治癒組成物、及び様々な添加剤を含む。

用いられるガム基剤は、望まれる基剤のタイプ、望まれるガムのコンシステンシー、及び最終チューインガム製品をつくるために組成物中に用いられる他の成分のような様々な因子に依存して、大きく変動する。ガム基剤は、当該技術分野において公知のあらゆる水溶性ガム基剤であっても良く、チューインガム及び風船ガムに用いられるガム基剤を含む。ガム基剤に適するポリマーの例示としては、天然及び合成のエラストマー及びゴムの双方が含まれる。例えば、ガム基剤として適するポリマーとしては、チクル、クラウンガム (crown gum)、ニスベロ (nispero)、ロサジンハ (rosadinha)、ジェルトン、ペリロ (perillo)、ニガグッタ、トゥヌー (tunu)、バラタ、グッターベルカ、レチーカプシ (lech i-capsi)、ソーバ (sorva)、グッタケイ (gutta kay)、それらの混合物などのような植物由来の物質が含まれるが、これらに限定されない。合成エラストマー、例えばブタジエンスチレンコポリマー、ポリイソブチレン、イソブチレン-イソプレンコポリマー、ポリエチレン、それらの混合物などが、特に有用である。

ガム基剤には、ポリビニル酢酸及びその部分加水分解物、ポリビニルアルコール、及びそれらの混合物のような無毒性のビニルポリマーが含まれる。ビニルポリマーを用いるとき、その分子量は約2,000～約94,000であり得る。

用いられるガム基剤の量は、用いられる基剤のタイプ、望まれるガムのコンシステンシー、及び最終チューインガム製品をつくるために組成物中に用いられる他の成分のような様々な因子に依存して大きく変動する。一般に、ガム基剤は、最終チューインガム組成物の約5重量%～約94重量%、好ましくは約15重量%～約45重量%、より好ましくは約15重量%～約35重量%、そして最も好ましくは約20重量%～約30重量%の量で存在するであろう。

ガム基剤組成物は、エラストマー基剤成分を軟化させるのに役立つ慣用的なエラストマー溶媒を含有することができる。そのようなエラストマー溶媒は、 α -ピネン又は β -ピネンのポリマーのようなテルピネン樹脂；水素化、二量化又はポリマー化されたロジン又はそれらの混合物のような変性ロジン及びガムのメチル、グリセロール、又はペンタエリトリールエステルを含むことができる。本発明で用いるのに適するエラストマー溶媒の例には、部分的に水素化されたウッドロジン又はガムロジンのペンタエリトリールエステル、ウッドロジン又はガムロジンのペンタエリトリールエステル、ウッドロジンのグリセロールエステル、部分的に二量化されたウッドロジン又はガムロジンのグリセロールエステル、ポリマー化されたウッドロジン又はガムロジンのグリセロールエステル、タル油ロジンのグリセロールエステル、ウッドロジン又はガムロジン及び部分的に水素化されたウッドロジン又はガムロジンのグリセロールエステル、及びウッドロジン又はガムロジンの部分的に水素化されたメチルエステル、それらの混合物などが含まれる。エラストマー溶媒は、ガム基剤の約5重量%～約75重量%、好ましくはガム基剤の約45重量%～約70重量%の量で用いることができる。

ラノリン、パルミチン酸、オレイン酸、ステアリン酸、ステアリン酸ナトリウム、ステアリン酸カリウム、グリセリルトリアセテート、グリセリルレシチン、グリセリルモノステアレート、プロピレングリコールモノステアレート、アセチル化モノグリセリド、グリセリン、それらの混合物などのような可塑剤又は軟化剤のような様々な伝統的な成分をガム基剤中に有効量で含ませることができ、様々な望ましいテクスチャー及びコンシステンシー特性を得るためにガム基剤中に加えることもできる。ワックス、例えば、天然及び合成ワックス；水素化植物油

；ポリウレタンワックス、ポリエチレンワックス、パラフィンワックス、微結晶質ワックスのような石油ワックス；脂肪ワックス（fatty waxes）；ソルビタンモノステアレート；獣脂；プロピレングリコール、それらの混合物などを望ましいテクスチャー及びコンシステンシー特性を得るためにガム基剤中に加えることもできる。これら伝統的な追加材料は、一般に、ガム基剤の約30重量%までの量で、好ましくは約3重量%～約20重量%の量で用いられる。

ガム基剤は、炭酸カルシウム、炭酸マグネシウム、アルミナ、水酸化アルミニウム、珪酸アルミニウム、タルク、リン酸三カルシウム、リン酸二カルシウムなどの無機補助剤、並びにそれらの混合物の有効量を含んでいても良い。これら無機補助剤は、充填剤及びテクスチャー剤として役立ち得る。これら充填剤又は補助剤は、様々な量でガム基剤中で用いることができる。好ましくは、充填剤を用いる場合、チューインガム基剤の約60重量%までの量で存在するであろう。

チューインガム基剤は、更に、着色剤、酸化防止剤、保存剤などの慣用的な添加剤を含むことができる。例えば、F.D.& C.染料として知られている、食品、薬剤及び化粧品用途に適する二酸化チタン及び他の染料を用いることができる。ブチル化ヒドロキシトルエン（BHT）、ブチル化ヒドロキシアニソール（BHA）、没食子酸プロピル、及びそれらの混合物のような酸化防止剤を含ませることもできる。チューインガム分野における当業者に知られている他の慣用的なチューインガム添加剤も、チューインガム基剤に用いることもできる。

本ガム組成物は、甘味剤、可塑剤、軟化剤、乳化剤、ワックス、充填剤、増量剤、無機補助剤、風味剤、着色剤、酸化防止剤、酸味料、増粘剤、それらの混合物などから成る群より選択される有効量の慣用的な添加剤を含むことができる。これら添加剤のいくつかは、一つ以上の目的に役立ち得る。例えば、無糖ガム組成物では、甘味剤、例えば、ソルビトール又は他の糖アルコール又はそれらの混合物は、増量剤としても機能し得る。同様に、糖含有ガム組成物では、砂糖甘味剤は、増量剤としても機能することができる。

ガム基剤に用いるのに適すると上で述べた可塑剤、軟化剤、無機補助剤、着色剤、ワックス及び酸化防止剤も、このガム組成物に用いることができる。用いることができる他の慣用的な添加剤の例には、レシチン及びグリセリルモノステア

レートのような乳化剤；メチルセルロース、アルギネート、カラギーナン、キサンタンガム、ゼラチン、イナゴマメ、トラガカントガム、ローカストビーンガム、及びカルボキシメチルセルロースのような他の軟化剤と組み合わせて又は単独で用いられる増粘剤；マレイン酸、アジピン酸、クエン酸、酒石酸、フマル酸、及びそれらの混合物のような酸味料；及び無機補助剤のカテゴリーの下で上で述べたような充填剤が含まれる。充填剤を用いる場合、ガム組成物の約60重量%以下の量で用いることができる。

チューインガムにおいて用いるのに適する増量剤（キャリヤ、エキステンダー）には、単糖類、二糖類、多糖類、糖アルコール、及びそれらの混合物から成る群から選択される甘味剤；ポリデキストロース；マルトデキストリン；炭酸カルシウム、タルク、二酸化チタン、リン酸二カルシウムなどのミネラルが含まれる。増量剤は、最終ガム組成物の約90重量%までの量で、好ましくはガム組成物の約40重量%～約70重量%の量で、より好ましくは約50重量%～約65重量%の量で、最も好ましくはチューインガム組成物の約55重量%～約60重量%の量で用いることができる。

用いられる甘味剤は、水溶性甘味剤、水溶性人工甘味剤、天然に存在する水溶性甘味剤から誘導された水溶性甘味剤、ジペプチド基剤甘味剤及びタンパク質基剤甘味剤、及びそれらの混合物を含む広範囲の材料から選択されうる。特定の甘味剤に限定されることなく、代表的なカテゴリー及び例には、

(a) キシロース、リボース、グルコース（デキストロース）、マンノース、ガラクトース、フルクトース（レブロース）、スクロース（砂糖）、マルトース、転化糖（スクロースから誘導されたフルクトースとグルコースの混合物）、部分加水分解デンプン、コーンシロップ固形物、ジヒドロカルコン、モネリン、ステビオシド、及びグリチルリチン、及びそれらの混合物のような単糖、二糖及び多糖、及び例えばソルビトール、マンニトール、マルチトール、水素化デンプン水解物及びそれらの混合物のような糖アルコールのような水溶性甘味剤；

(b) 可溶性サッカリン塩、すなわち、サッカリンナトリウム塩又はサッカリンカルシウム塩、シクラミン酸塩、3,4-ジヒドロ-6-メチル-1,2,3-オキサチアジン-4-オン-2,2-ジオキシドのナトリウム塩、アンモニウム

塩又はカルシウム塩、3,4-ジヒドロ-6-メチル-1,2,3-オキサチアジン-4-オン-2,2-ジオキシドのカリウム塩 (Acesulfame-K)、フリーの酸の型のサッカリン等のような水溶性人工甘味剤；

(c) L-アスパルチル-L-フェニルアラニンメチルエステル (Aspartame) 及び米国特許第3,492,131号に記載された物質、L- α -アスパルチル-N-(2,2,4,4-テトラメチル-3-チエタニル)-D-アラニンアミド水和物 (Alitame)、L-アスパルチル-L-フェニルグリセリン及びL-アスパルチル-L-2,5-ジヒドロフェニルグリシンのメチルエステル、L-アスパルチル-2,5-ジヒドロ-L-フェニルアラニン；L-アスパルチル-L-(1-シクロヘキセン)アラニン等のようなL-アスパラギン酸誘導甘味剤などのジペプチド基剤甘味剤；

(d) 例えば、Sucralose の製品名で知られている、普通の砂糖 (スクロース) の塩素化誘導体のような天然に存在する水溶性甘味剤から誘導された水溶性甘味剤；及び

(e) thaumaococcus danielli (Thaumatococcus daniellii) などのタンパク質基剤甘味剤が含まれる。

一般に、有効量の甘味剤を用いて増量及び／又は甘味の所望のレベルが提供され、この量は、選択される甘味剤によって変動する。甘味剤の量は、通常は、用いる甘味剤に依存して、ガム組成物の約0.0025重量%～約90重量%の量で存在する。各タイプの甘味剤についての正確な量の範囲は、当該技術分野において周知であり、本発明の主題ではない。所望のレベルの甘味を達成するのに通常必要な甘味剤の量は、香油から達成される風味レベルから独立している。

好ましい砂糖基剤甘味剤は、砂糖 (スクロース)、コーンシロップ及びそれらの混合物である。好ましい無糖甘味剤は、糖アルコール、人口甘味剤、ジペプチド基剤甘味剤及びそれらの混合物である。好ましくは、糖アルコールが無糖組成物に用いられる。というのは、これら甘味剤は、増量並びに所望のレベルの甘味を提供するのに十分な量で用いることができるからである。好ましい糖アルコールは、ソルビトール、キシリトール、マルチトール、マンニトール、及びそれらの混合物から成る群より選択される。より好ましくは、ソルビトール、又はソル

ビトールとマンニトールとの混合物が用いられる。ソルビトールの α 型が好ましい。好ましくは、人口甘味剤又はジペプチド基剤甘味剤が、糖アルコールを含むガム組成物に加えられる。

ガム組成物に有用な着色剤は、所望の色を生じさせるのに有効な量で用いられる。これら着色剤には、ガム組成物の約6重量%までの量で加えることができる顔料が含まれる。好ましい顔料である二酸化チタンは、組成物の最大約2重量%まで、好ましくは約1重量%未満の量で取り込まれうる。着色剤には、食物、薬物及び化粧品用途に適した天然食用色素及び染料も含まれうる。これら着色剤は、F.D.& C.染料及びレーキとして知られている。前述の用途に許容できる材料は、水溶性であるのが好ましい。典型的な非制限例には、F.D.& C.ブルー2号として知られているインジゴイド染料が含まれ、それは5,5-インジゴスズジスルホン酸の二ナトリウム塩である。同様に、F.D.& C.グリーン1号として知られる染料は、トリフェニルメタン染料を含まれ、それは4-[4-(N-エチル-p-スルホニウムベンジルアミノ)ジフェニルメチレン]-[1-(N-エチル-N-p-スルホニウムベンジル)- δ -2,5-シクロヘキサジエンイミン]のナトリウム塩である。全てのF.D.& C.着色剤の完全な詳述及びそれらの対応する化学構造は、Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, 第3版, 5巻, 857-884頁で見ることができ、その内容は参照により本明細書中に組み入れられるものとする。

ガム組成物に用いることができる適する油脂には、ココナッツ油、パームナッツ油、牛脂、ラードなどのような部分的に水素化された植物性又は動物性の脂肪が含まれる。これら成分を用いる場合、一般に、ガム組成物の約7重量%まで、好ましくは約3.5重量%までの量で存在する。

本発明によれば、治療的有效量の本発明の治療用創傷治癒組成物がチューインガム中に混和され得る。これら量は、過度の実験を必要とすることなく、当業者によって容易に決定される。好ましい態様においては、最終チューインガム組成物は、チューインガム組成物の約0.1重量%~約10重量%の量の治療用創傷治癒組成物及び組成物の全量を100重量%にするのに十分な量のチューインガム組成物を含むであろう。より好ましい態様においては、最終のチューインガム

組成物は、チューインガム組成物の約0.1重量%～約5重量%の量の治療用創傷治癒組成物を含み、そして最も好ましい態様においては、本チューインガム組成物は、約0.1重量%～約2重量%の量の治療用創傷治癒組成物、並びに組成物の全量を100重量%にするのに十分な量のチューインガム組成物を含むであろう。

本発明は、治療用チューインガム組成物をつくる方法に及ぶ。治療用創傷治癒組成物は、当業者に公知の標準的な技術及び装置を用いて、慣用的なチューインガム組成物中に加えることができる。本発明による有用な装置は、チューインガム製造分野で周知の混合装置及び加熱装置を含むので、具体的な装置の選択は、当業者には明らかである。

例えば、ガム基剤を、その基剤の物理的及び化学的な組成に悪影響を及ぼすことなくその基剤を軟化させるのに十分に高い温度まで加熱する。用いられる最適温度は、用いるガム基剤の組成に依存して変動し得るが、かかる温度は、過度の実験を必要とせずに、当業者によって容易に決定される。

ガム基剤は、約60℃～約120℃の温度で、その基剤を溶融させるのに十分な時間、慣用的な方法で溶融される。例えば、ガム基剤をこれら条件下で約30分間加熱した直後に、可塑剤、充填剤、増量剤及び／又は甘味剤のような基剤の残りの成分で増量させながら混和して、そのブレンド物を可塑化し、並びにその基剤の硬さ、粘弾性及び二次成形適性を調節することができる。次に、このチューインガム基剤を、他の伝統的な成分と予めブレンドされていてもよい本発明の治療用創傷治癒組成物とブレンドする。ガム組成物の均質混合物が得られるまで混合を続ける。その後、このガム組成物の混合物を所望のチューインガム形状に成形することができる。

具体的な態様においては、本発明は、哺乳動物細胞の負傷を防止し且つ減少させ、負傷した哺乳動物細胞の回復速度を速めるための治療用医薬組成物であって：

(A) (I. A) (a) ビルビン酸、薬学的に許容できるビルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるビルベート；

(b) 酸化防止剤；及び

(c) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物；

(I. B) (a) ビルビン酸、薬学的に許容できるビルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるビルベート；

(b) 乳酸、薬学的に許容できる乳酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるラクテート；及び

(c) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物；

(I. C) (a) 酸化防止剤；及び

(b) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物；

(I. D) (a) 乳酸、薬学的に許容できる乳酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるラクテート；

(b) 酸化防止剤；及び

(c) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物；

からなる群から選択されるエンボディメント 1 (I) の治療的有効量の治療用創傷治癒組成物、及び

(B) 薬学的に許容できるキャリヤを含む治療用医薬組成物に向けられている。

薬学的に許容できるキャリヤは、製薬器具、局所用ビヒクル、及び摂取できるビヒクルから成る群より選択され得る。

別の具体的な態様においては、本発明は、哺乳動物細胞の負傷を防止しかつ減少させ、負傷した哺乳動物細胞の回復速度を高める治療用医薬組成物を製造する方法であって：

(A) (I. A) (a) ビルビン酸、薬学的に許容できるビルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるビルベート；

(b) 酸化防止剤；及び

(c) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸

が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物；

(I . B) (a) ピルビン酸、薬学的に許容できるピルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるピルベート；

(b) 乳酸、薬学的に許容できる乳酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるラクテート；及び

(c) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物；

(I . C) (a) 酸化防止剤；及び

(b) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物；

(I . D) (a) 乳酸、薬学的に許容できる乳酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるラクテート；

(b) 酸化防止剤；及び

(c) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物；

から成る群から選択されるエンボディメント 1 の治療的有効量の治療用創傷治癒組成物 (I . A ~ D) を提供する工程；

(B) 薬学的に許容できるキャリアを提供する工程；及び

(C) 工程 (A) からの治療用創傷治癒組成物と、工程 (B) からの薬学的に許容できるキャリアとを混合して、治療用医薬組成物をつくる工程を含む方法に向けられている。

この出願の全体を通して、様々な文献を引用した。これら文献における開示内容は、技術の現状をより十分に説明するために、参照により本明細書に組み入れられるものとする。

有効な請求の範囲を限定することを意図していない以下の実施例によって、本発明を更に説明する。実施例及び明細書及び請求の範囲の全体を通してすべての部及び％は、特に断りがない限り、最終組成物の重量を基準としている。

E . エンボディメント 1 の治療用創傷

治癒組成物 (I . A ~ D) の実施例

検討 1

この検討は、様々な酸化防止剤及び酸化防止剤の組み合わせに対してU937単核細胞を曝した後に、該細胞の生存率に関する比較を示している。この検討は、様々な酸化防止剤及び酸化防止剤の組み合わせに対してU937単核細胞及び哺乳動物表皮ケラチノサイトを曝した後に、該細胞によって産生される過酸化水素のレベルに関する比較も示している。この検討の結果は、図1～4及び以下の実施例1～26で説明する。

哺乳動物の表皮ケラチノサイト及び単核細胞を用いて、これら細胞における過酸化水素のレベルを低下させる様々な酸化防止剤の能力を試験した。前記細胞を290～320 nmの波長の紫外線(UV-B)、又は炎症性化合物12-O-テトラデカノイル-フォルボール-13-アセテート(TPA)に対して曝した後、過酸化水素を測定した。ビルビン酸ナトリウムを様々な濃度で試験して、表皮細胞及び単核細胞による過酸化水素産生へのこの酸化防止剤の濃度の効果を調べた。次に、ビルビン酸マグネシウム、ビルビン酸カルシウム、ビルビン酸亜鉛、及びビルビン酸ナトリウムとアスコルビン酸、乳酸、及びビタミンEとの組み合わせを試験して、表皮細胞及び単核細胞による過酸化水素産生へのこれら塩及び酸化防止剤の組み合わせの効果を調べた。

哺乳動物表皮ケラチノサイトを、上皮シート(epithelial sheets)をトリプシン処理することによって分離し、表皮成長因子、ウシ下垂体抽出物、及びヒドロコルチゾンを補充した修飾基本MCDB153培地中で増殖させた。細胞を5%二酸化炭素の加湿インキュベーター中で37℃で維持した。ケラチノサイトを培養皿当たり 3×10^5 個の細胞密度で60 mm培養皿中に接種し、その培養物を紫外-B線($100 \text{ mJ} / \text{cm}^2$)の1 M.E.D線量に曝すか、又は100 ng/mlのTPAで処理した。

U937単核細胞は、10%ウシ胎児血清を有するRPMI培地で増殖した培養細胞系である。細胞を培養皿当たり 1×10^6 個を超えない接種密度で60 mm培養皿中に5%二酸化炭素で37℃で保持した。

ビルビン酸ナトリウム、乳酸、アスコルビン酸、及びビタミンEを十分な界面活性剤と共に蒸留水中に溶かした。調製したビルビン酸ナトリウム溶液の濃度は

、
1 m M、1 0 m M、5 0 m M、1 0 0 m M、及び2 0 0 m Mであった。調製した乳酸溶液の濃度は、1.0 %、0.1 %、及び0.0 5 %であった。調製したアスコルビン酸溶液の濃度は、1.0 %、0.1 %、0.0 5 %、及び0.0 2 5 %であった。調製したビタミンE溶液の濃度は、1 U、1 0 U、5 0 U、及び1 0 0 Uであった。試験溶液を1.0 N水酸化ナトリウム溶液でp H 7.4に調節し、次に滅菌済とした。紫外線-B又はT P A [1 0 0 n g / m l] に細胞を曝す直前に、適切な濃度の試験溶液又は試験溶液の組み合わせを細胞に加えた。ビヒクルが培地の総体積の1 %以上を構成しないように、ストック溶液を調製した。

哺乳動物の表皮ケラチノサイト及びU 9 3 7単核細胞による細胞内の過酸化水素産生を、ジクロロフルオロセインジアセテート (D C F H - D A , Molecular Probes, Eugene, Ore.) を用いて測定した。D C F H - D A は、容易に細胞中に拡散し、そこで極性非蛍光性誘導体D C F Hへと加水分解されて細胞中に捕捉されるようになる非極性非蛍光性化合物である。細胞内に過酸化水素が存在すると、D C F Hは酸化されて高蛍光性化合物D C Fとなる。故に、細胞内の蛍光強度は、産生される細胞内過酸化水素のレベルに直接比例する。細胞性蛍光強度は、蛍光定量法によって及びフローサイトメトリーによって追跡することができる。

哺乳動物の表皮ケラチノサイト及びU 9 3 7培養単核細胞（培養皿当たり 1×10^6 ）を37℃で5 u MのD C F H - D Aと共に培養した。過酸化水素の産生をCoulter Profile 分析フローサイトメトリーを用いて測定した。緑色蛍光データの一次及び対数強度が収集された。各分析について、1 0, 0 0 0 ~ 2 0, 0 0 0の量の事象が蓄積された。装置についての光学的アラインメントは毎日行った。正角度光散乱 (forward angle light scatter) 及び積分緑色蛍光 (integrated green fluorescence) の変動係数は、概して2未満であった。各分析を3回繰り返し、蛍光の量を1細胞当たりの酸化されたD C Fのフェムトモル (f m o l , 10^{-15} モル) で表現した。これは、産生された細胞内過酸化水素の直接指標である。また、実施例27~52における飽和及び不飽和の脂肪酸では、蛍光測定法を用いて1細胞当たりのD C F酸化を評価した。

24時間、様々な酸化防止剤に細胞を曝した後のU937単核細胞の生存率を測定した。細胞の生存率は、染料のヨウ化プロピジウムに細胞を曝することによ

て測定した。この染料を吸収した透過性細胞膜は、生存していると考えなかった。細胞の生存率は、ヨウ化プロピジウムを排除した細胞の%として表した。図1は、酸化防止剤に曝していない（実施例1、対照）、ビルビン酸ナトリウム（実施例2）、アスコルビン酸（実施例3）、乳酸（実施例4）、及びビタミンE（実施例5）に曝した後のU937単核細胞の生存率を棒グラフで示したものである。図2は、酸化防止剤の様々な組み合わせに対して細胞を曝した後のU937単核細胞の生存率を棒グラフで示したものである。詳しくは、U937単核細胞の生存率を、酸化防止剤に曝していない（実施例6、対照）、アスコルビン酸と乳酸（実施例7）、アスコルビン酸とビタミンE（実施例8）、ビルビン酸ナトリウムとアスコルビン酸（実施例9）、ビルビン酸ナトリウムと乳酸（実施例10）、ビルビン酸ナトリウムとビタミンE（実施例11）、乳酸とビタミンE（実施例12）、及びビルビン酸ナトリウム、アスコルビン酸及び乳酸（実施例13）に対して曝した後に測定した。

図1から、アスコルビン酸には、0.25%ほどの低い濃度で、単核細胞に対して細胞毒があることが分かる。図2から、アスコルビン酸の細胞毒が10mMのビルビン酸ナトリウムを添加することによって反転したことが分かる。図1及び図2は、アスコルビン酸で処理したときの細胞の生存率15%~20%が、ビルビン酸ナトリウムの添加で95%~98%まで増加したことを示している。乳酸及びビタミンEは、アスコルビン酸の細胞毒を反転させなかった。

次いで、ビルビン酸ナトリウムを様々な濃度で試験して、表皮細胞及び単核細胞による過酸化水素産生へのこの酸化防止剤の濃度の効果を調べた。哺乳動物の表皮ケラチノサイト及び単核細胞を、次の濃度：すなわち、200mM、100mM、50mM、10mM、1mMのビルビン酸ナトリウムの存在下で、(a)紫外線-Bの1M.E.D線量、及び(b)100ng/mlの12-O-テトラデカノイルフォルボール-13-アセテート(TPA)に曝した。

表皮細胞及び単核細胞による過酸化水素産生を減少させるのに最適なビルビン

酸ナトリウムの濃度は10 mMであることが分かった。50 mM及びそれより上のビルビン酸ナトリウムの濃度は、表皮ケラチノサイト及び単核細胞の双方に対して細胞毒性であった。

ビルビン酸マグネシウム、ビルビン酸カルシウム、ビルビン酸亜鉛、アスコルビン酸、乳酸、及びビタミンE、及びビルビン酸ナトリウムと、アスコルビン酸、乳酸、及びビタミンEとの組み合わせを試験して、表皮細胞及び単核細胞による過酸化水素産生へのこれら塩及び酸化防止剤の組み合わせの効果を調べた。以下の試験溶液を調製した。

- (a) ビルビン酸ナトリウム〔10 mM〕；
- (b) 亜鉛塩〔10 mM〕；
- (c) マグネシウム塩〔10 mM〕；
- (d) カルシウム塩〔10 mM〕；
- (e) ビルビン酸ナトリウム〔10 mM〕及びアスコルビン酸〔0.025%〕；
- (f) ビルビン酸ナトリウム〔10 mM〕及び乳酸〔0.05%〕；
- (g) ビルビン酸ナトリウム〔10 mM〕、乳酸〔0.05%〕、及びアスコルビン酸〔0.025%〕；
- (h) 乳酸〔1.0%、0.1%及び0.05%〕；
- (i) アスコルビン酸〔1.0%、0.1%、0.05%、及び0.025%〕；
- (j) ビタミンE〔1 U、10 U、50 U、及び100 U〕；及び
- (k) ビヒクル溶媒対照。

表皮細胞及び単核細胞による過酸化水素産生へのビルビン酸の亜鉛、マグネシウム、及びカルシウム塩の間に有意な差はなかった。ビルビン酸の亜鉛及びカルシウム塩はケラチノサイトの分化を誘発した。便宜上、次の試験ではナトリウム塩を用いた。

表皮細胞及び単核細胞による過酸化水素産生を減少させる乳酸の最適濃度は、0.05%であることが分かった。アスコルビン酸の最適濃度は、0.025%であることが分かった。これら化合物の双方のより高い濃度では、両方のタイプの

細胞に対して細胞毒性があることが分かった。ビタミンEの最適濃度は、50Uであることが分かった。

図3は、酸化防止剤に曝していない（実施例14、対照）、ビルビン酸ナトリウム（実施例15）、アスコルビン酸（実施例16）、乳酸（実施例17）、及びビタミンE（実施例18）に曝した後のU937単核細胞によって産生された過酸化水素のレベルを棒グラフで示したものである。ビルビン酸ナトリウム及びビタミンEは、単核細胞による過酸化水素産生を有意に減少させた。

図4は、酸化防止剤の様々な組み合わせに対して細胞を曝した後のU937単核細胞によって産生された過酸化水素のレベルを棒グラフで示したものである。詳しくは、酸化防止剤に曝していない（実施例19、対照）、アスコルビン酸と乳酸（実施例20）、アスコルビン酸とビタミンE（実施例21）、ビルビン酸ナトリウムとアスコルビン酸（実施例22）、ビルビン酸ナトリウムと乳酸（実施例23）、ビルビン酸ナトリウムとビタミンE（実施例24）、乳酸とビタミンE（実施例25）、及びビルビン酸ナトリウム、アスコルビン酸、及び乳酸（実施例26）に曝した後に、U937単核細胞によって産生された過酸化水素のレベルを測定した。乳酸（0.05%）及びビタミンE（50U）の組み合わせは、単核細胞による過酸化水素産生を有意に減少させた。

表皮ケラチノサイトにおける形態学的変化が、対照培養物及び紫外線-Bに曝した培養物において観察された。真皮に最も近い層の細胞は、基底ケラチノサイトである。これら細胞は増殖して、細胞が分化し始める表皮の有棘層及び顆粒層の中に移動する。この分化パターンで、細胞は表皮の最上部で脱核して角質化した外被を形成する。ケラチノサイトの分化は、培地中にあるカルシウム、マグネシウム、及び他の元素のレベルによって調節される。分化を促進する培養系における細胞は、互いの付着又はしっかりした接合を形成している表皮シートとして現れる。付着しなくなったか又は培地中に浮遊しているケラチノサイトは、細胞毒に対する応答であると考えられた。

哺乳動物表皮ケラチノサイトにおける次の形態学的変化が、次の対照培地について観察された：

1.0 mMピルビン酸ナトリウム：細胞のしっかりした接合が形成され、細胞の増殖速度は、対照細胞の増殖速度よりも速かった。

0.025%アスコルビン酸：細胞は、アスコルビン酸に対する細胞毒応答によって浮遊していた。

0.025%アスコルビン酸及び1.0 mMピルビン酸ナトリウム：細胞のしっか

りした接合はほとんど観察されず、細胞は、ピルビン酸ナトリウム培地における細胞と同じように見えた。

0.05%乳酸：細胞は、表皮シートとして及び平坦な顆粒細胞として劇的に変化しているように見えた。

0.05%乳酸及び1.0 mMピルビン酸ナトリウム：細胞は、表皮シートを形成したが、乳酸培地における細胞よりも小さいように見えた。

5.0 UビタミンE：細胞は、対照培地における細胞と同じように見えた。

5.0 UビタミンE及び1.0 mMピルビン酸ナトリウム：細胞は、その数を増しそして外観は変化してピルビン酸ナトリウム培地における細胞と似たものとなった。

哺乳動物表皮ケラチノサイトにおける次の形態学的変化が、100ミリジュールの紫外線-Bに24時間曝した対応培地について観察された：

1.0 mMピルビン酸ナトリウム：細胞は、対照培地における細胞よりも速く増殖した。

0.025%アスコルビン酸：紫外線-B光に曝されていない対応細胞の細胞毒応答よりも大きくアスコルビン酸に細胞毒応答して付着せずに浮遊していた。

0.05%乳酸：細胞は、表皮シートを形成し、紫外線-B光に曝されていない対照培地における細胞よりも顆粒状であった。

5.0 UビタミンE：細胞増殖は抑制されたが、細胞は、紫外線-B光に曝されていない対照培地における細胞と同じように見えた。

5.0 UビタミンE及び1.0 mMピルビン酸ナトリウム：細胞は、対照培地における細胞と同様に見え、紫外線-B光に曝していない対照培地における細胞よりも大きな程度まで増殖した。

U937単核細胞系における形態学的変化は、対照培地、及び100ミリジュールの紫外線-Bに24時間曝した培養物についても観察された。以下に記載した濃度の化合物及び化合物の組み合わせは、U937単核細胞によって産生される過酸化水素のレベルを有意に抑制した

10 mM及び50 mMのビルビン酸ナトリウム；

50 U及び100 UのビタミンE；及び

0.05%の乳酸及び50 UのビタミンE

エンボディメント1の治療用創傷

治癒組成物（I.A～D）の実施例

検討2

この検討は、飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸との混合物を有する及び有しない、酸化防止剤の様々な組み合わせに対して細胞を曝した後の、U937単核細胞及び表皮ケラチノサイトによって産生される過酸化水素のレベルに関する比較を示す。この検討の結果は、以下の図5～7及び実施例27～52において示す。

哺乳動物の表皮ケラチノサイト及びU937単核細胞、及びビルビン酸ナトリウム、乳酸、アスコルビン酸、及びビタミンEの溶液を、上記した実施例1～26のようにして調製した。哺乳動物の表皮ケラチノサイト及びU937単核細胞による細胞内過酸化水素産生も、上記のようにして測定した。

鶏脂0.1%を培地と混合することによって培養細胞に添加するために、鶏脂から誘導された脂肪酸の混合物を調製した。37℃の培地温度において、鶏脂は混和性であった。細胞を紫外線-B又はTPA処理に曝す前に、前記の鶏脂混合物を細胞の培養に加えた。

実施例1～26で説明したようにして、様々な酸化防止剤、及び飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸との混合物〔鶏脂0.1%、0.5%、及び1.0%〕を有する及び有しない、酸化防止剤の組み合わせの存在下で、哺乳動物の表皮ケラチノサイト及び単核細胞を、（a）紫外線-Bの1 M.E.D線量及び（b）12-オ-テトラデカノイルフォルボール-13-アセテート100 ng/mlに曝した。

図5は、飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸との混合物を有する及び有しない、酸化防

止剤の様々な組み合わせに対して細胞を曝した後のU937単核細胞によって産生された過酸化水素のレベルを、棒グラフで記述したものである。詳しくは、U937単核細胞によって産生された過酸化水素のレベルを、脂肪酸を有していない乳酸とビタミンEに対して曝した（実施例27）及び脂肪酸を有する乳酸とビタミンEに対して曝した（実施例28）、脂肪酸を有していないアスコルビン酸と乳酸に対して曝した（実施例29）及び脂肪酸を有するアスコルビン酸と乳酸に対して曝した（実施例30）、脂肪酸を有しないアスコルビン酸とビタミンEに対して曝した（実施例31）及び脂肪酸を有するアスコルビン酸とビタミンEに対して曝した（実施例32）後に、測定した。単核細胞による過酸化水素産生を減少させる、乳酸とビタミンE、アスコルビン酸と乳酸、及びアスコルビン酸とビタミンEの能力は、脂肪酸の存在下で増大した。単核細胞の過酸化水素産生を減少させるのに最も有効な組み合わせは、飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸との混合物（0.5%）の存在下における、乳酸（0.05%）とビタミンE（50E）との組み合わせであった。

図6は、飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸との混合物を有する及び有しない、様々な酸化防止剤に対して細胞を曝した後の表皮ケラチノサイトによって産生された過酸化水素のレベルを、棒グラフで記述したものである。詳しくは、表皮ケラチノサイトによって産生された過酸化水素のレベルを、脂肪酸にも酸化防止剤にも曝さなかった（実施例33、対照）及び脂肪酸には曝したが酸化防止剤には曝さなかった（実施例34）、脂肪酸を有していないビルビン酸ナトリウムに曝した（実施例35）及び脂肪酸を有するビルビン酸ナトリウムに対して曝した（実施例36）、脂肪酸を有しないアスコルビン酸に対して曝した（実施例37）及び脂肪酸を有するアスコルビン酸に対して曝した（実施例38）、脂肪酸を有しない乳酸に対して曝した（実施例39）及び脂肪酸を有する乳酸に対して曝した（実施例40）、及び脂肪酸を有しないビタミンEに対して曝した（実施例41）及び脂肪酸を有するビタミンEに対して曝した（実施例42）後に、測定した。表皮ケラチノサイトによる過酸化水素産生を減少させる、ビルビン酸ナトリウムとビタミンEの能力は、脂肪酸の存在下で増大した。表皮ケラチノサイトの過酸化

水素産生を減少させるのに最も有効な組み合わせは、飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸との混合物と組み合わせたビルビン酸ナトリウム、及び飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸との混合物と組み合わせたビタミンEであった。

図7は、飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸との混合物を有する及び有しない、酸化防止剤の様々な組み合わせに対して細胞を曝した後に、表皮ケラチノサイトによって産生された過酸化水素のレベルを、棒グラフで記述したものである。詳しくは、表皮ケラチノサイトによって産生された過酸化水素のレベルを、脂肪酸にも酸化防止剤にも曝さなかった（実施例43、対照）及び脂肪酸には曝したが酸化防止剤には曝さなかった（実施例44）、脂肪酸を有していないビルビン酸ナトリウム

とアスコルビン酸に曝した（実施例45）及び脂肪酸を有するビルビン酸ナトリウムとアスコルビン酸に対して曝した（実施例46）、脂肪酸を有しないビルビン酸ナトリウムと乳酸に対して曝した（実施例47）及び脂肪酸を有するビルビン酸ナトリウムと乳酸に対して曝した（実施例48）、脂肪酸を有しないビルビン酸ナトリウムとビタミンEに対して曝した（実施例49）及び脂肪酸を有するビルビン酸ナトリウムとビタミンEに対して曝した（実施例50）、及び脂肪酸を有しないアスコルビン酸とビタミンEに対して曝した（実施例51）及び脂肪酸を有するアスコルビン酸とビタミンEに対して曝した（実施例52）後に、測定した。表皮ケラチノサイトによる過酸化水素産生を減少させる、酸化防止剤のすべての組み合わせの能力は、脂肪酸の存在下で増大した。有効性の程度において、表皮ケラチノサイトの過酸化水素産生を減少させるのに最も有効な組み合わせは、それぞれ飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸との混合物（0.5%）と組み合わせた、ビルビン酸ナトリウムとビタミンE、ビルビン酸ナトリウムと乳酸、及びビタミンEであった。

上記したアスコルビン酸による細胞の細胞毒の故に、ビルビン酸ナトリウムを有していないアスコルビン酸の組み合わせは、対照試験溶液と有意な差があるとは考えられなかった。

検討1及び2からのデータの総括的分析

ヒト表皮ケラチノサイトを、上皮シートをトリプシン処理することによって単離し、表皮成長因子及びウシ下垂体抽出物を補充した修飾基本MCDB153培地で増殖させた。細胞は、1皿当たり密度 3×10^5 個で、培養皿の中に接種した。紫外線-B ($100 \text{ mJ} / \text{cm}^2$) 又はTPA 100 ng/ml で処理する前に、培養物を、適当な濃度の創傷治癒成分で処理した。過酸化水素の細胞内産生を、DCFH-DA、すなわち細胞中に容易に拡散し、加水分解されて非極性誘導体になる非極性化合物を用いて、測定した。細胞内過酸化水素の存在下で、DCFHは酸化されて高度の蛍光性化合物DCFになる。したがって、細胞蛍光強度は、産生される過酸化水素のレベルに直接比例し、フローサイトメトリーによってモニターすることができる。過酸化水素は細胞毒性であるので、低レベルの過酸化水素産生が、細胞生存率にとっては望ましい。

すべての場合において、三成分創傷治癒組成物は、予測した結果を超えており、予測外の相乗作用を明確に示した。

1	結果		
	2	3	4
1-対照	250	250	0
2-脂肪酸 (0.5%)	250	230	-20
3-ビルビン酸ナトリウム (10mM)	250	490	+240
4-ビタミンE (50単位)	250	400	+150
5-ビルベート及び脂肪酸	250	430	+180
6-ビタミンE及び脂肪酸	250	200	-50
7-ビルベート及びビタミンE	250	290	+40
8-ビルベート及びビタミンE 及び脂肪酸	250	120	-130

縦列1は、異なる処理群を示している。

縦列2は、対照細胞における過酸化水素の産生 (10^{-15} /細胞) を示している。

縦列3は、創傷治癒成分で処理した後の過酸化水素の産生を示している。

縦列4は、処置した後の対照からの過酸化水素の産生における差を示している。

すべての比較は、過酸化水素を250フェムト/細胞を産生した対照に対して評価した。正の数は、対照に比べて過剰の過酸化水素を産生したことを表し、負の数は、対照よりも少ない過酸化水素産生を表している。これら結果は、図8に掲げてある。

単一成分効果の組み合わせ

脂肪酸 (-20) 及びビタミンE (+150) 及びビルベート (+240)

+340は予測した三成分効果である

-130は創傷治癒組成物の実際の効果である

500は予測した効果から実際の効果を引いた差である（相乗作用）

二対成分と単一成分との組み合わせ

ピルベート及び脂肪酸（+180）及びビタミンE（+150）

+330は予測した三成分効果である

-130は創傷治癒組成物の実際の効果である

460は予測した効果から実際の効果を引いた差である（相乗作用）

ビタミンE及び脂肪酸（-50）及びピルベート（+240）

+190は予測した三成分効果である

-130は創傷治癒組成物の実際の効果である

320は予測した効果から実際の効果を引いた差である（相乗作用）

ピルベート及びビタミンE（+40）及び脂肪酸（-20）

+20は予測した三成分効果である

-130は創傷治癒組成物の実際の効果である

150は予測した効果から実際の効果を引いた差である（相乗作用）

すべての場合において、三成分創傷治癒組成物は、予測した結果を超えており、予測外の相乗作用を明確に示した。

エンボディメント1（I.A～D）の治療用創傷治癒組成物の実施例

検討3

この検討は、慣用的な創傷治癒組成物に対する、本発明の治療用創傷治癒組成物の創傷治癒能力の比較を示している。この検討の結果は、実施例A～Dに示してある。

表Aに記載した組成物を有する実施例A～Dの創傷治癒組成物を調製した。

実施例				
成分	A プレパレーションH	B	C	D
ピルビン酸 ナトリウム	—	2%	—	—
ビタミンE	—	1%	—	—
鶏脂	—	2%	—	—
LYCD	2000U*	2400U	2200U	—
サメの肝油	3%*	3%	3%	—
ペトロラタム	総計で	64%	66.5%	68%
鉱油	100%	22.53%	25.03%	26.8%
パラフィン	となる量	5%	5%	5%
乳化剤	で	0.2%	0.2%	0.2%

*これら化合物は、プレパレーションH（商標）中に存在する。

創傷治癒組成物Aは市販のプレパレーションHである。創傷治癒組成物Bは、生酵母細胞誘導体、サメの肝油、及びピルビン酸ナトリウムとビタミンEと鶏脂との混合物を含むペトロラタム基剤配合物であった。創傷治癒組成物Cは、生酵母細胞誘導体及びサメの肝油を含む配合物であった。創傷治癒組成物Dは、ペトロラタム基剤配合物のみであった。

創傷治癒検討を、6～8週齢の無毛マウス（SKR-1, Charles River）を用いて行った。一群のマウスは対照として未処置であり、実施例Eとする。各群には、3日又は7日で評価するための6匹のマウスがおり、該検討では全部で6

0匹を評価した。マウスをエーテルで麻酔し、10号メスブレードで、中線にそ

って全厚3 cmで縦に切開した。その切開を、1 cm間隔でスチールクリップを用いて閉じた。無作為盲検試験で、上記の配合物A～Dを、傷つけた後2時間、0日において創傷に対して塗布し、試験の7日間、24時間間隔で塗布した。該創傷を毎日検査し、試験の1日毎における閉鎖に関して0～5を基準として評価した。評点5は、最も良く治癒した創傷を示している。

上記マウスは、頸部を脱臼させて3日及び7日目に屠殺した。切開部を含む背側の皮膚を皮下組織を付けずに切り離した。その皮膚を中性緩衝ホルマリン中に入れ、次に切片にし、ヘマトキシリン及びエオシンで染色した。その創傷を顕微鏡で検査し、代表的な組織の切片を写真に撮った。

実験のそれぞれの日における、創傷の閉鎖及び治癒速度に関する前記配合物の評点及びランクは、以下のものであった：

B (5) >> D (4) >> C (2) > / = E, 対照 (2) > A (1)

4日目の創傷マウスの写真を、図9及び図10に掲げてある。

図9及び図10から、生酵母細胞誘導体、サメの肝油、及びビルビン酸ナトリウムとビタミンEと鶏脂との混合物を含むペトロラタム基剤配合物である配合物Bは、他の配合物に比べて、有意により良い創傷治癒剤であったことが分かる。これら結果は、実験のそれぞれの日(1～7)における、創傷閉鎖及び治癒速度の主観的等級付けによって、ならびに創傷内における炎症性細胞の浸潤の程度及び創傷辺縁における上皮化の程度を測定するための組織切片の主観的組織学的検査に基づいて支持される。最終結果は、配合物Bで処置したマウスに関して、瘢痕組織が7日目には一層小さくなっていたというものであった。

配合物Dは、サメの肝油及び生酵母細胞誘導体を含むペトロラタム基剤配合物である配合物C、又はプレパレーションHである配合物Aに比べて、治癒を促進するのに有意に一層有効であると判定された。治癒を促進させる、配合物Cを超える配合物Dのすぐれた能力は、生酵母細胞誘導体が無くなり、細胞が別の栄養素源へと移る時に引き起こされる治癒過程の遅延に起因しているかもしれない。配合物Bにおけるビルビン酸ナトリウムとビタミンEと鶏脂との混合物の存在は、生酵母細胞誘導体の枯渇を、明らかに補っている。

生酵母細胞誘導体及びサメの肝油を含むペトロラタム基剤配合物である配合物Cは、創傷閉鎖の速度及び治癒の程度において、対照（処置されていない創傷）と同等であると判定された。プレパレーションHである配合物Aは、主観的な創傷治癒の等級付け及び組織切片の主観的検査の双方によって、少なくとも有効な治癒配合物であることが分かった。治癒を促進する、配合物Aを超える配合物D及び配合物Cのすぐれた能力は、経表皮的水損失を妨げ、治癒及び創傷閉鎖を促進する閉鎖創傷包帯として作用する能力によるものであり得る。治癒を促進する配合物Aの能力の悪さは、保存剤としてプレパレーションH中に存在する硝酸フェニル水銀の潜在的な細胞毒性によるものであり得る。

これら結果から、ビルビン酸ナトリウムとビタミンEと鶏脂との混合物を含む本発明の創傷治癒組成物は、哺乳動物細胞の増殖速度及び回復速度を速めることが分かる。創傷治癒組成物は、酸化損傷を抑制する治癒の最初の段階における低レベルの酸素と、コラーゲン形成を促進する治癒の後の段階におけるより高いレベルの酸素とを仲介する。

II. アクネ処置用創傷治癒組成物

A. エンボディメント2 (I. A~D + X)

出願人は、トレチノイン(X)及びエンボディメント1(I. A~D)の創傷治癒組成物を含む治療用アクネ処置用創傷治癒組成物(I. A~D + X)を見出した。好ましくは、創傷治癒組成物(I. A)は、(a)ビルベート、(b)酸化防止剤、及び(c)飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸との混合物を含む。トレチノインは尋常性アクネの局所処置に有用であるが、過剰な赤色化、浮腫性疱疹又は外殻、及び適用部位に重い局部紅斑及び皮膚剥脱を誘発することが知られている。創傷治癒組成物は、負傷した哺乳動物細胞の回復速度及び死んだ細胞と置換するための新たな哺乳動物細胞の増殖速度を高めることができるが、尋常性アクネを治療しない。出願人は、トレチノインと創傷治癒組成物との組み合わせが、増補創傷治癒組成物として尋常性アクネの期間と重さを軽減し、そして細胞保護性創傷治癒組成物としてトレチノインの使用に伴う過敏症を軽減する治療用アクネ処置用創傷治癒組成物をもたらすことを見出した。この発明は、その治療用アクネ処置用創傷治癒組成物をシワを処置するために用いる方法にも関する。

本発明のトレチノインと創傷治癒組成物との組み合わせは、尋常性アクネを処置するのに有用でかつ哺乳動物細胞の負傷を阻止及び軽減し更に負傷した哺乳動物細胞の回復速度を高める高い能力を有する医薬組成物を提供する。トレチノインに伴う組織損傷が誘発する炎症は、細胞産生活性水素種の生成により起こると考えられる。トレチノインと創傷治癒組成物との組み合わせは、かかる反応性酸素連鎖性組織傷害を抑制することができる。

上記したように、トレチノイン (Retin-ATM) は、尋常性アクネの局所処置に必要とされる。化学的には、トレチノインは all-トランス型レチノール酸 (ビタミンA) である。トレチノインは、ブチル化ヒドロキシトルエン、ヒドロキシプロピルセルロース、及びアルコールからなるゲル状ビヒクルで；ステアリン酸、ミリスチン酸イソプロピル、ステアリン酸ポリオキシ40、ステアリルアルコール、キサンタンガム、ソルビン酸、ブチル化ヒドロキシトルエン及び精製水からなる親水性クリーム状ビヒクルで；及びポリエチレングリコール400、ブチル化ヒドロキシトルエン、及びアルコールからなる液状ビヒクルで入手することができる。トレチノインは、トレチノインの初期的製剤及び／又は更なるトレチノインの時間放出形態を提供するために、薬学分野において周知の多くの異なる物理的形態で用いることができる。これらに限定されることなく、かかる物理的形態には、フリー形態及びカプセル化形態、及びそれらの混合形態が含まれる。

本発明において用いられるトレチノインの量は、個々の患者について推奨されるか又は許される治療用投与量に依存して変動する。一般に、存在するトレチノインの量は、所望の結果を得るのに必要とされる通常の投与量である。かかる投与量は、医学分野における熟練した開業医には分かっており、本発明部分ではない。好ましい態様においては、アクネ治療用創傷治癒組成物中のトレチノインは、約0.01重量%～約0.1重量%、好ましくは約0.025重量%～約0.05重量%の量で存在する。

B. エンボディメント2のアクネ処置用創傷治癒

組成物 (I. A～D + X) を作る方法

本発明は、アクネ処置用創傷治癒組成物 (I. A～D + X) を作る方法に及ぶ

。一般に、治療用アクネ処置用創傷治癒組成物は、エンボディメント1の創傷治癒

組成物(I.A~D)とトレチノインとの混和物を形成することにより作られる。エンボディメント2の第一の側面(I.A+X)では、アクネ処置用創傷治癒治療用組成物は、トレチノインと、(a)ピルベート、(b)酸化防止剤、及び(c)飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸との混合物を含む創傷治癒組成物との混和物を形成することによって作られる。エンボディメント2の第二の側面(I.B+X)では、アクネ処置用創傷治癒治療用組成物は、トレチノインと、(a)ピルベート、(b)乳酸、及び(c)飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸との混合物を含む創傷治癒組成物との混和物を形成することによって作られる。エンボディメント2の第三の側面(I.C+X)では、アクネ処置用創傷治癒治療用組成物は、トレチノインと、(a)酸化防止剤、及び(b)飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸との混合物を含む創傷治癒組成物の混和物を形成することによって作られる。エンボディメント2の第四の側面(I.D+X)では、アクネ処置用創傷治癒治療用組成物は、トレチノインと、(a)乳酸、(b)酸化防止剤、及び(c)飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸との混合物を含む創傷治癒組成物の混和物を形成することによって作られる。

好ましい態様では、本発明は、下記成分：

(A) 治療的有効量のトレチノイン；及び

(B) 創傷治癒組成物であって：

(a) ビルビン酸、薬学的に許容できるビルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるピルベート；

(b) 酸化防止剤；及び

(c) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物を含む、創傷治癒組成物を混和する工程を含む治療用アクネ処置用創傷治癒組成物を製造する方法に向けられている。

C. エンボディメント2のアクネ処置用創傷治癒

組成物 (I . A ~ D + X) を用いる方法

本発明は、治療用アクネ処置用創傷治癒組成物 (I . A ~ D + X) を用いる方法に及ぶ。一般に、治療用組成物は、その治療用組成物を尋常性アクネに接触させることによって用いられる。好ましい態様においては、本発明は、ヒトにおける尋常性アクネをアクネ処置用創傷治癒組成物 (I . A + X) で処置する方法であって：

(A) 治療用アクネ処置用創傷治癒組成物であって：

(1) 治療的有效量のトレチノイン；及び

(2) 創傷治癒組成物であって：

(a) ビルビン酸、薬学的に許容できるビルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるビルベート；

(b) 酸化防止剤；及び

(c) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物を含む創傷治癒組成物を含む、治療用アクネ処置用創傷治癒組成物を提供し；そして

(B) 該アクネ処置用創傷治癒組成物を感染した創傷に接触させる工程を含む方法に向けられている。

もう一つの好ましい態様においては、本発明は、その治療用アクネ処置用創傷治癒組成物 (I . A ~ D + X) をシワを処置するために用いる方法に及ぶ。トレチノインは、汗胞上皮細胞の凝集性を減少させてマイクロコメドの形成を減少させるので、シワを減少させるのにも用いることができる。一般に、治療用組成物は、その治療用組成物をシワに接触させることにより用いられる。具体的な態様においては、本発明は、ヒトにおけるシワをアクネ処置用創傷治癒組成物 (I . A ~ D + X) で処置する方法であって：

(A) 治療用アクネ処置用創傷治癒組成物であって：

(1) 治療的有效量のトレチノイン；及び

(2) 創傷治癒組成物であって：

(a) ビルビン酸、薬学的に許容できるビルビン酸の塩、及びそれらの

混合物からなる群から選択されるピルベート；

(b) 酸化防止剤；及び

(c) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物を含む創傷治癒組成物を

含む、治療用アクネ処置用創傷治癒組成物を提供し；そして

(B) 該アクネ処置用創傷治癒組成物をシワに接触させる工程を含む方法に向けられている。

本発明のアクネ処置用創傷治癒組成物及び増補アクネ処置用創傷治癒組成物を用いて治癒することができる創傷のタイプは、尋常性アクネである。

尋常性アクネ又はシワを処置する方法は、典型的には、本発明の組成物を尋常性アクネ又はシワに直接に局所投与することを含む。本組成物は、細胞の増殖及び回復速度を高めるのに十分な時間、尋常性アクネ又はシワと接触したままにされる。

D. エンボディメント2の増補アクネ処置用

創傷治癒組成物 (I. A ~ D + X + M)

エンボディメント2の別の側面では、本発明の治療用アクネ処置用創傷治癒組成物 (I. A ~ D + X) を更に創傷を処置するのに有用な医薬品 (M) と組み合わせ、増補アクネ処置用創傷治癒組成物 (I. A ~ D + X + M) を形成することができる。この態様では、本発明のアクネ処置用創傷治癒組成物と創傷を処置するのに有用な医薬品の組み合わせが、哺乳動物細胞の増殖及び回復速度を高める増強された能力を有する増補アクネ処置用創傷治癒組成物を提供する。例えば、本発明の治療用組成物を、免疫刺激剤 (Betafectin™)、抗ウイルス剤、抗表皮剥離剤 (antikeratolytic agents)、抗炎症剤、抗真菌剤、トレチノイン、日焼け止め剤、皮膚科剤、局所抗ヒスタミン剤、抗細菌剤、生体接着剤 (bioadhesive agents)、レスピラトリリーバースト阻害剤 (乳酸、アデノシン)、プロスタグランジン合成の阻害剤 (イブプロフェン、アスピリン、インドメタシン、メクロフェノミン酸 (meclofenomic acid)、レチノイン酸、パジメートO、メクロメン、オキシベンゾン)、ステロイド系抗炎症剤 (合成類似物を含むコルチコス

テロイド)、抗微生物剤(ネオスポリン軟膏、シルバジン)、防腐剤、麻酔剤(塩酸プラモキシシ、リドカイン、ベンゾカイン)、細胞栄養培地、火傷軽減医薬品、日焼け用医薬品、アクネ用製剤、虫咬傷及び虫刺され用医薬品、創傷清浄剤、創傷用包帯、癬痕軽減剤(ビタミンE)など、及びそれらの混合物のような創傷を処置するのに有用な医薬品と組み合わせて用いて、哺乳動物細胞の増殖速度及び

回復速度を更に高めることができる。好ましくは、創傷を処置するのに有用な医薬品は、免疫刺激剤、抗ウイルス剤、抗表皮剥離剤、抗炎症剤、抗真菌剤、トレチノイン、日焼け止め、皮膚科剤、局所抗ヒスタミン剤、抗細菌剤、生体接着剤、レスピラトリバースト阻害剤、プロスタグランジン合成の阻害剤、抗微生物剤、細胞栄養培地、癬痕軽減剤、及びそれらの混合物からなる群から選択される。より好ましくは、創傷を処置するのに有用な医薬品は、免疫刺激剤、抗ウイルス剤、抗表皮剥離剤、抗炎症剤、抗真菌剤、アクネ処置剤、日焼け止め、皮膚科剤、抗ヒスタミン剤、抗細菌剤、生体接着剤、及びそれらの混合物からなる群から選択される。

好ましい態様においては、本発明は、増補アクネ処置用創傷治癒組成物(I、 $A + X + M$)であって：

(A)治療用アクネ処置用創傷治癒組成物であって：

(1)治療的有效量のトレチノイン；及び

(2)創傷治癒組成物

を含み、該創傷治癒組成物が：

(a)ビルビン酸、薬学的に許容できるビルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるビルベート；

(b)酸化防止剤；及び

(c)飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物

を含む、治療用アクネ処置用創傷治癒組成物；及び

(B)創傷を処置するのに有用な医薬品

を含む、増補アクネ処置用創傷治癒組成物に向けられている。

本発明は、増補アクネ処置用創傷治癒組成物を作る方法に及ぶ。一般に、この増補組成物は、治療用アクネ処置用創傷治癒組成物を創傷を処置するのに有用な医薬品と混和して、この増補アクネ処置用創傷治癒組成物を製造することにより作られる。

本発明は、治療用増補アクネ処置用創傷治癒組成物を用いる方法に及ぶ。一般に、治療用増補組成物は、この治療用組成物を尋常性アクネに接触させることに

より用いられる。好ましい態様においては、本発明は、ヒトにおける尋常性アクネを増補アクネ処置用創傷治癒組成物 (I . A + X + M) で処置する方法であって：

(A) 治療用増補アクネ処置用創傷治癒組成物であって：

(1) 治療的有効量のトレチノイン；

(2) 創傷治癒組成物であって：

(a) ビルビン酸、薬学的に許容できるビルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるビルベート；

(b) 酸化防止剤；及び

(c) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物を含む創傷治癒組成物；及び

(3) 創傷を処置するのに有用な医薬品を含む、治療用増補アクネ処置用創傷治癒組成物を提供し；そして

(B) 該アクネ処置用創傷治癒組成物を尋常性アクネに接触させる工程を含む方法に向けられている。

もう一つの好ましい態様においては、本発明は、この治療用増補アクネ処置用創傷治癒組成物をシワを処置するために用いる方法に及ぶ。一般に、治療用増補組成物は、その治療用組成物をシワに接触させることにより用いられる。具体的な態様においては、本発明は、ヒトにおけるシワを増補アクネ処置用創傷治癒組成物 (I . A + X + M) で処置する方法であって：

(A) 治療用アクネ処置用創傷治癒組成物であって：

(1) 治療的有効量のトレチノイン；及び

(2) 創傷治癒組成物であって：

(a) ビルビン酸、薬学的に許容できるビルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるビルベート；

(b) 酸化防止剤；及び

(c) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物

を含む創傷治癒組成物を含む、治療用アクネ処置用創傷治癒組成物を提供し；そして

(B) 該アクネ処置用創傷治癒組成物をシワに接触させる工程を含む方法に向けられている。

E. エンボディメント 2 の

アクネ処置用創傷治癒組成物 (I. A ~ D + X)

及び (I. A ~ D + X + M) の配合

本発明の治療用アクネ処置用創傷治癒組成物及び増補アクネ処置用創傷治癒組成物を製造したら、これらを将来の使用のために保存しても、多種多様な医薬組成物を製造するために、薬学的装具及び局所ビヒクル（経口及び非経口）のような薬学的に許容できるキャリヤと共に有効量で配合してもよい。用いることができる薬学的に許容できるキャリヤ及びその薬学的に許容できるキャリヤを製造するために用いられる方法は、エンボディメント 1 の創傷治癒組成物 (I. A ~ D) の配合に関連して上記した。

好ましい態様においては、本発明は、アクネ処置用創傷治癒組成物であって：

(A) 治療用アクネ処置用創傷治癒組成物 (I. A + X) であって：

(1) 治療的有効量のトレチノイン；及び

(2) 創傷治癒組成物であって：

(a) ビルビン酸、薬学的に許容できるビルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるビルベート；

(b) 酸化防止剤；及び

(c) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物

を含む該創傷治癒組成物を含む、治療用アクネ処置用創傷治癒組成物；及び

(B) 薬学的装具、生体接着剤、及び閉塞性ビヒクルからなる群から選択される薬学的に許容できるキャリア

を含む、アクネ処置用創傷治癒組成物に向けられている。

もう一つの好ましい態様においては、本発明は、哺乳動物細胞の増殖速度及び回復速度を高めるための医薬組成物を製造する方法であって：

(A) 治療的有効量のアクネ処置用創傷治癒組成物 (I, A + X) であって：

(1) トレチノイン；及び

(2) 創傷治癒組成物であって：

(a) ビルビン酸、薬学的に許容できるビルビン酸の塩、及びそれらの混合物からなる群から選択されるビルベート；

(b) 酸化防止剤；及び

(c) 飽和及び不飽和脂肪酸の混合物であって、該脂肪酸が細胞膜の修復及び哺乳動物細胞の回復に必要な脂肪酸である混合物

を含む該創傷治癒組成物を含む、アクネ処置用創傷治癒組成物を提供し；

(B) 薬学的に許容できるキャリアを提供し；そして

(C) 工程(A)からのアクネ処置用創傷治癒組成物と工程(B)からの薬学的に許容できるキャリアを混和して医薬組成物を製造する工程を含む方法に向けられている。

【図1】

④

U937単核細胞

ヨウ化プロピジウム生存率検討

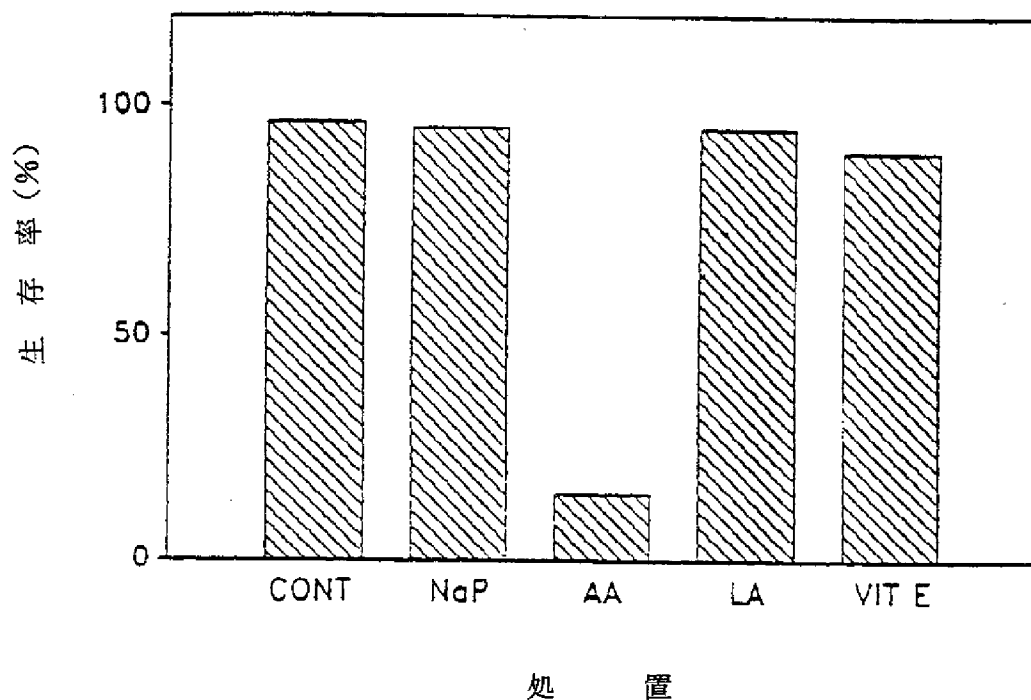


図1. 酸化防止剤化合物に24時間曝した後のU937単核細胞の生存率の%を染料ヨウ化プロピジウムを排除した細胞の%として表した。これら化合物に曝した後に細胞膜が透過性であるなら、それらはこの染料を吸収するから生存しているとは考えられない。アスコルビン酸は、0.25%ほどの低い濃度で細胞毒性であることに留意のこと。

【図2】

④ 2

U937単核細胞

ヨウ化プロピジウム生存率検討

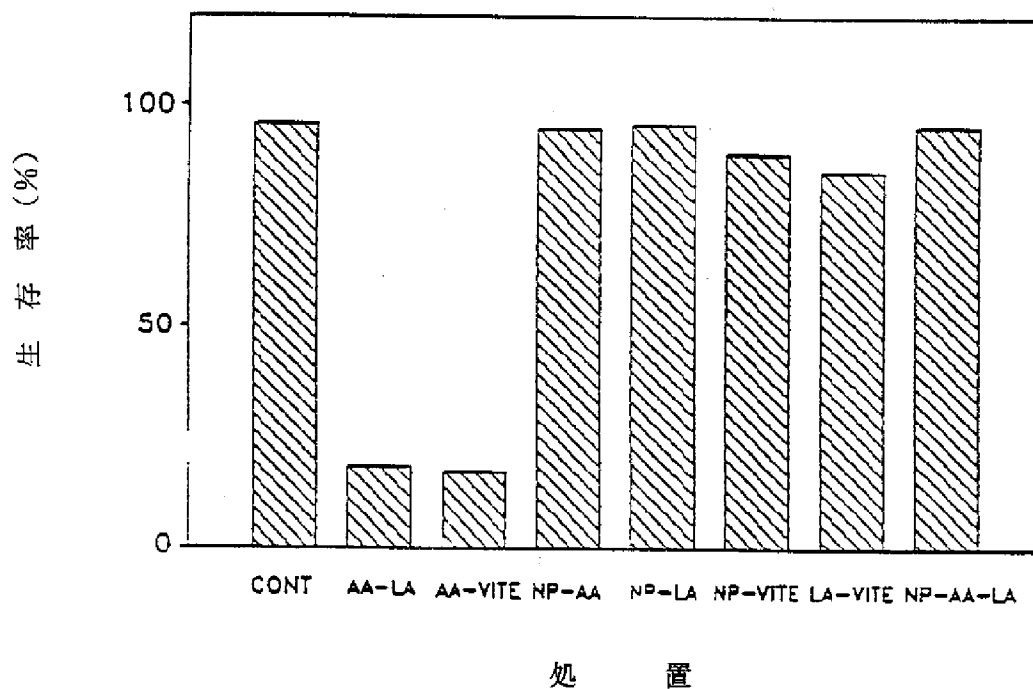


図2. 酸化防止剤化合物の組み合わせに曝した後のU937単核細胞の生存率の%を染料ヨウ化プロピジウムを排除した細胞の%として表した。アスコルビン酸の細胞毒だけがピルビン酸ナトリウムの添加により反転したことに留意のこと。対照的に、ビタミンEの添加も乳酸の添加もアスコルビン酸の細胞毒を変化させなかった。

【図3】

④ 3

U937単核細胞により産生される過酸化水素のレベル

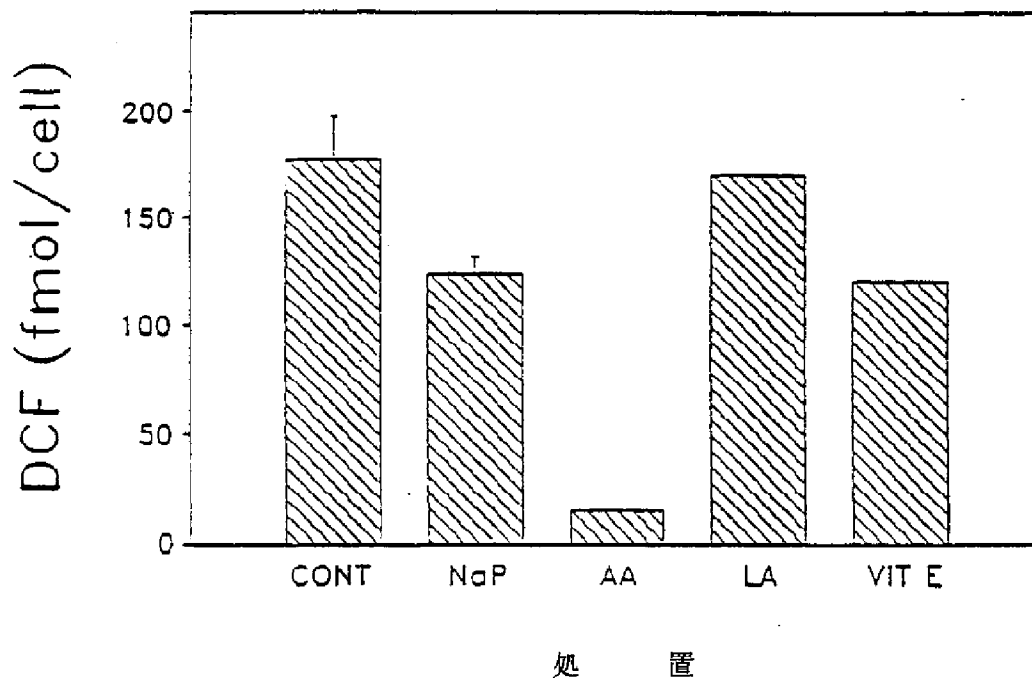


図3. U937単核細胞により産生される過酸化水素のレベルを細胞当たりの酸化されたDCFのfmolにより表現した。ピルビン酸ナトリウム(10mM)及びビタミンE(50U)に24時間曝すと、単核細胞による過酸化水素の産生が有意に減少することに留意のこと。

【図4】

図4

U937単核細胞内での過酸化水素産生のレベル

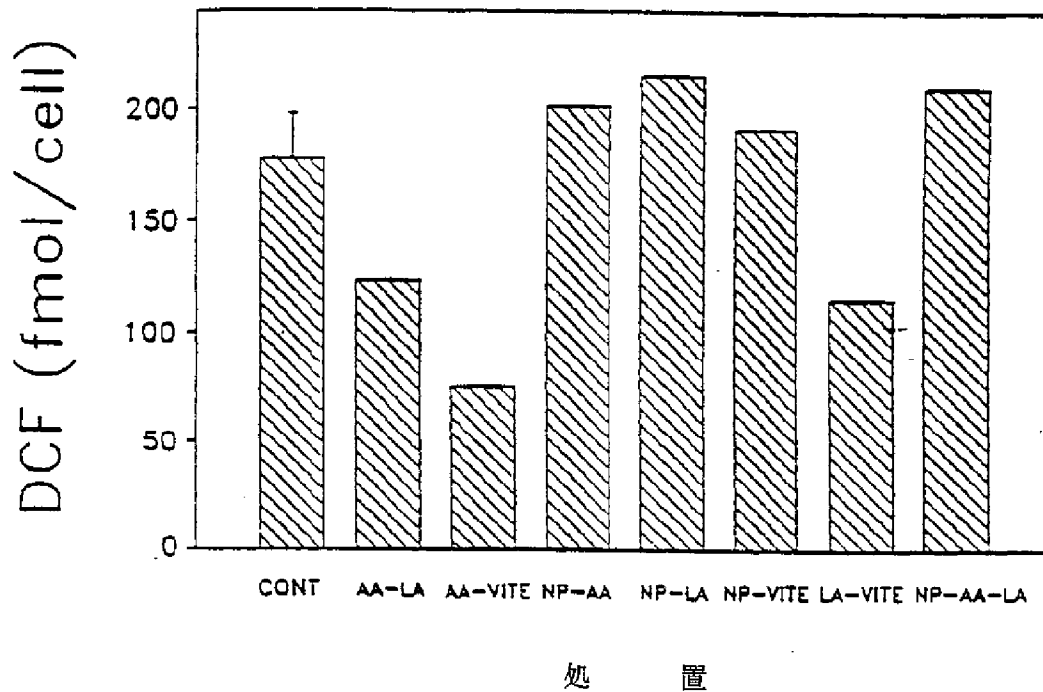


図4. 酸化防止剤化合物の組み合わせに曝した後のU937単核細胞により産生される過酸化水素のレベル。乳酸（0.05%）及びビタミンE（50U）の組み合わせが、過酸化水素産生を有意に減少させたことに留意のこと。

【図5】

図5

飽和脂肪酸／不飽和脂肪酸に曝した後のU937単核細胞により産生される過酸化水素のレベル

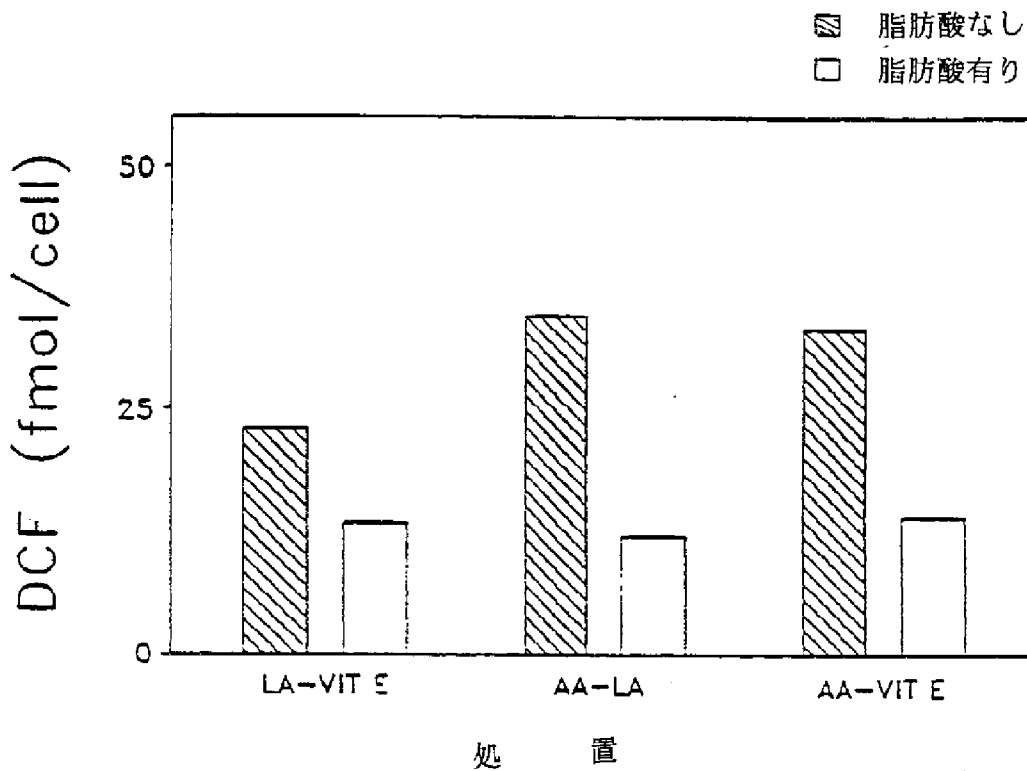


図5. 酸化防止剤化合物と、飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸との混合物の組み合わせに曝した後のU937単核細胞により産生される過酸化水素のレベル。過酸化水素の産生を有意に減少させる、乳酸とビタミンEまたはアスコルビン酸の組み合わせ並びにアスコルビン酸とビタミンEの組み合わせの能力は、脂肪酸の添加に依存していることに留意のこと。

【図6】

(4)6

飽和脂肪酸／不飽和脂肪酸に曝した後の表皮ケラチノサイトにより産生される過酸化水素のレベル

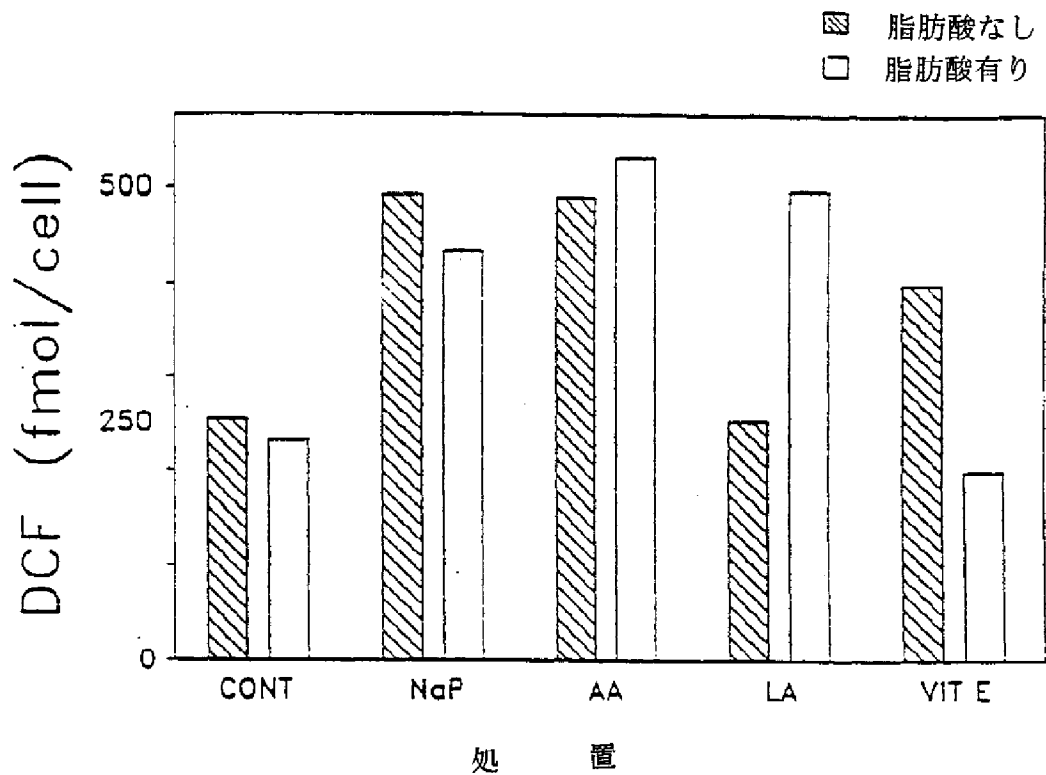


図6. 脂肪酸と共に酸化防止剤化合物に曝した後の表皮ケラチノサイトにより産生される過酸化水素のレベル。脂肪酸と、ピルビン酸ナトリウムまたはビタミンEの組み合わせが、表皮ケラチノサイトにより産生される過酸化水素を有意に減少させることに留意のこと。

【図7】

図7

飽和脂肪酸／不飽和脂肪酸に曝した後の表皮ケラチノサイトにより産生される過酸化水素のレベル

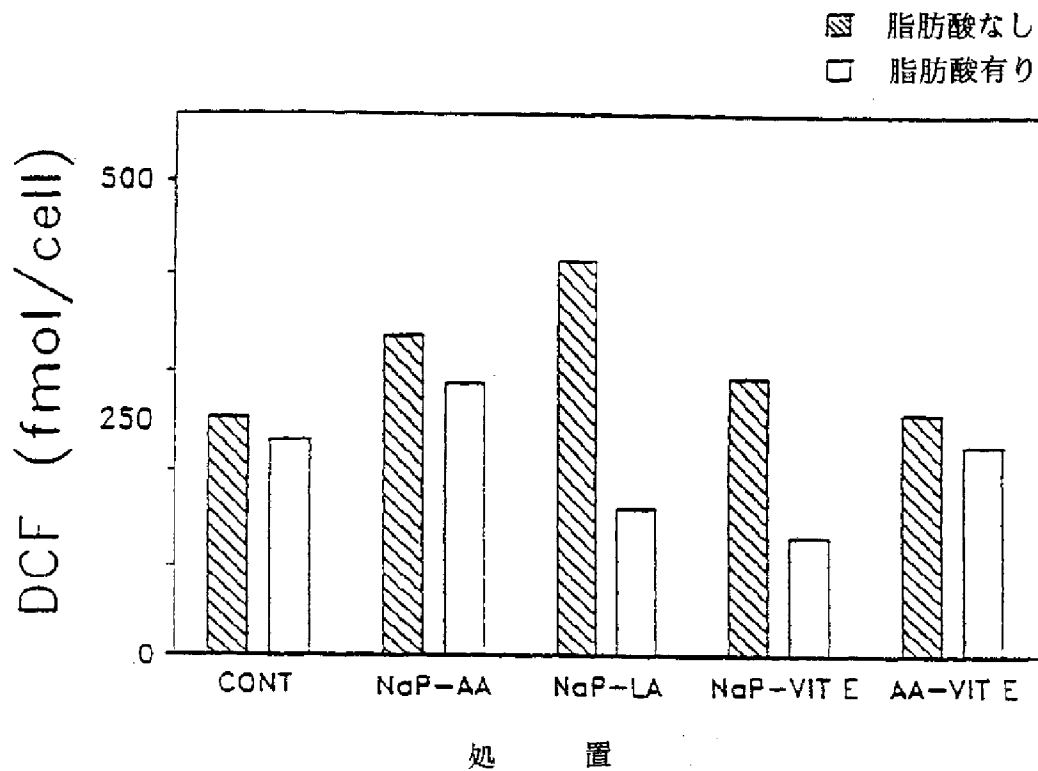
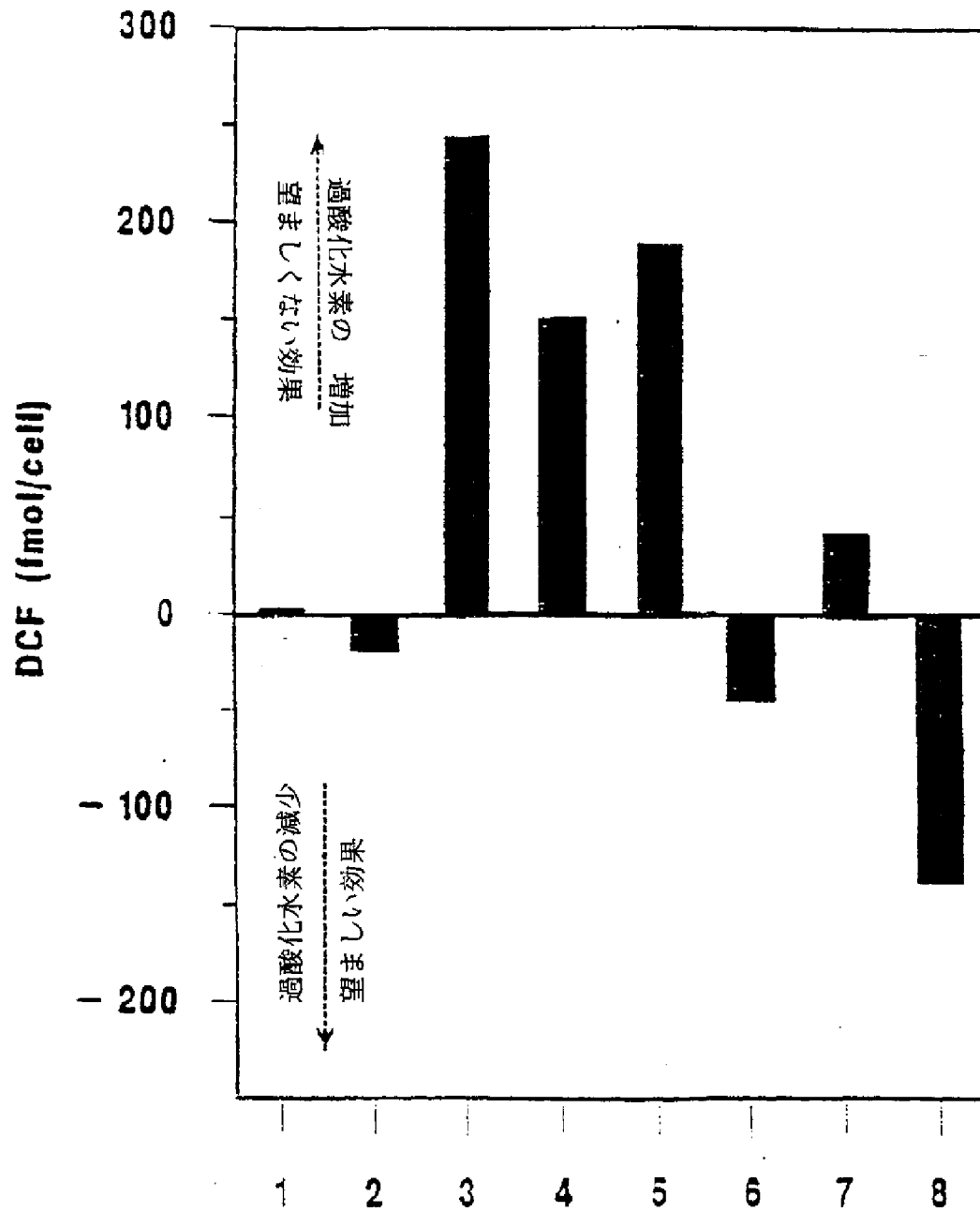


図7. 酸化防止剤化合物と脂肪酸の組み合わせに曝した後の表皮ケラチノサイトにより産生される過酸化水素のレベル。ピルビン酸ナトリウムと乳酸又はビタミンEの組み合わせへの脂肪酸の添加が、過酸化水素の産生を有意に減少させることに留意のこと。

【図8】

図8



【図9】

④ 9

種々の製剤での創傷治癒実験



対照—処置せず

(B) LYCD、サメ油を含む
ペトロラタムベース、3元系(C) LYCD、及びサメ油を含む
ペトロラタムベース

(A) プレパレーションH

* 全てのマウスは相互に1時間以内に負傷した。クリームは、負傷の2時間後に塗布して24時間間隔で再塗布した。

【図10】

図10

創傷治癒実験



(D) ペトロラタムベース

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No. PCT/US 95/12853
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 6 A61K45/06		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 6 A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of documents, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO,A,93 10776 (WARNER LAMBERT CO) 10 June 1993 see page 28, line 30 - page 29, line 24 see claims 15,16 ---	1-21
X	WO,A,92 15292 (WARNER LAMBERT CO) 17 September 1992 see claim 50 see page 29, line 17 - line 27 see page 35, line 15 - page 337, line 34 -----	1-21
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "Z" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 10 April 1996		Date of mailing of the international search report
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 140-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax (+31-70) 340-3016		Authorized officer Leherte, C

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 95/ 12853

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Remark: Although claims 13-15, 18, 19 are directed to a method of treatment of (diagnostic method practised on) the human/animal body the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. ☒ Claims Nos.: 1-20
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
In view of the large number of compounds which are defined by the wording of the claims, the search has been performed on the general idea and compounds mentioned in the examples of the description.
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/US 95/12853

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
W0-A-9310776	10-06-93	AU-B-	2808992	28-06-93
		CA-A-	2123678	10-06-93
		EP-A-	0614359	14-09-94
		JP-T-	7501339	09-02-95
		NZ-A-	245275	27-04-95
		ZA-A-	9209155	25-05-93

W0-A-9215292	17-09-92	AU-B-	1271892	06-10-92
		CA-A-	2104461	02-09-92
		EP-A-	0573465	15-12-93
		JP-T-	6506917	04-08-94

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁶	識別記号	F I
A 6 1 K 31/015	A G A	A 6 1 K 31/015
31/19		31/19
31/20		31/20
45/00		45/00

(81)指定国 EP(AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, M C, NL, PT, SE), AU, CA, JP, MX, N Z, SG